

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**BÁRBARA GUERREIRA ALPANDÉ FERREIRA**

**ESTAQUIA DE *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra: INFLUÊNCIA DO  
AMBIENTE DE COLETA, FENOFASES, NUTRIÇÃO MINERAL E FATOR  
GENÉTICO**

**CURITIBA**

**2013**

**BÁRBARA GUERREIRA ALPANDÉ FERREIRA**

**ESTAQUIA DE *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra: INFLUÊNCIA DO  
AMBIENTE DE COLETA, FENOFASES, NUTRIÇÃO MINERAL E FATOR  
GENÉTICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Katia Christina Zuffellato-Ribas

Co-orientadores: Prof. Dr. Carlos Bruno Reissmann  
Prof. Dr. Henrique Soares Koehler  
Dr. Ivar Wendling

**CURITIBA**

**2013**

*“Se não puder voar..... Corra!  
Se não puder correr.... Ande!  
Se não puder andar.....Rasteje!  
Mas continue em frente de qualquer jeito”*

Martin Luther King

*DEDICO*

*Ao meu marido José Maria Júnior, que independente dos obstáculos que a vida nos impôs sempre esteve ao meu lado, com muito amor e dedicação;*

*Aos meus pais Regina e Márcio, pelo incentivo e paciência.*



## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora e amiga para todas as horas Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Katia Christina Zuffellato-Ribas, pela amizade e compreensão nos momentos de dúvidas, pela palavra de incentivo que me faltava, pela bronca na hora da preguiça e principalmente por acreditar em mim como pesquisadora;

Aos meus co-orientadores Prof. Dr. Henrique Soares Koehler, Prof. Dr. Carlos Bruno Reissmann e Dr. Ivar Wendling, pelo auxílio e acompanhamento durante a realização deste trabalho;

À Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental (SPVS), em especial ao Pesquisador Ricardo Miranda Britez, por acreditar no projeto e auxiliar sempre que necessário;

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Thelma Alvim Veiga Ludwig pelo acolhimento no Laboratório de Ficologia da UFPR e auxílio na realização das fotomicrografias do material anatômico;

Ao Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup>. Renato Marques, pela paciência e disposição em ajudar nas muitas dúvidas que tive durante o período que permaneci no Laboratório de Biogeoquímica da UFPR, e principalmente por possibilitar as análises nutricionais do trabalho;

Ao servidor técnico Aldair Munhoz, pelo auxílio nos procedimentos laboratoriais, pelos convites para tomar um café e pelas conversas sobre os mais diversos assuntos;

A todos os funcionários e professores do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, que fizeram me sentir em casa, durante o período que estive quase que diariamente no Laboratório, além dos aprendizados adquiridos por conviver em uma área nova;

À Prof. Dr<sup>a</sup>. Cleusa Bona e ao técnico Nilson Belém Filho, pelo auxílio nas análises anatômicas;

Aos amigos Emprapeanos, que há muitos anos participam da minha vida científica e pessoal, os quais de funcionário da Embrapa Florestas passaram a grandes amigos, agradeço ao Vero, Joel, Alemão, Nide e Décio pela amizade e apoio na instalação dos experimento. Agradeço também ao Irineu e Sr. Wilson, que suaram comigo nas coletas no litoral, sempre com um sorriso no rosto e prontos para ajudar no que fosse preciso;

Ao Pesquisador Antonio Aparecido Carpanezi, pela disposição do Laboratório de Ecologia, e pelos conhecimentos adquiridos nesses anos de trabalho;

A todos os Zuffelletes, atuais e honorários, pela amizade e pelo auxílio nas coletas e instalação de experimentos. Em especial agradeço ao meu “estagiário” Paulo G. Mazeto, que me surpreendeu pela força de vontade e pela dedicação nessa pesquisa sendo, juntamente com

meu marido José Maria Júnior, meu braço direito nas idas a campo, que mesmo exaustivas se tornavam divertidas. E claro que não posso esquecer a minha amiga Helena Rickli, nome popular “Leninha”, agradeço sua amizade e ajuda, não só científica mais pessoal, durante esse período da minha vida;

À colega do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo Lucimara Antunes, que sempre estava pronta para resolver os problemas acadêmicos com rapidez e simpatia;

À CAPES, SPVS e *Embrapa Florestas* pelo apoio financeiro e logístico concedido a esta pesquisa;

Ao meu amado marido e amigo José Maria Júnior, que sempre esteve ao meu lado, me encorajando e incentivando nas horas difíceis, além de estar disposto em ajudar sempre que precisei.

## RESUMO

O grau de sucesso obtido na propagação vegetativa é determinado pela relação entre diversos fatores, como o genótipo, as condições fisiológicas da planta matriz, as variações dos ambientes de desenvolvimento e a época de coleta do material vegetal. Assim, o objetivo do presente trabalho foi verificar a influência de diferentes ambientes de desenvolvimento das plantas matrizes, das características fenológicas, da nutrição mineral e do potencial genético no processo de formação do sistema radicial para *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae), além de caracterizar anatomicamente o material vegetal e a formação de raízes adventícias. A espécie, com potencial ornamental, farmacêutico e ecológico, é nativa da Floresta Ombrófila Densa, com ocorrência nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina. No primeiro capítulo, estacas caulinares foram coletadas em quatro fenofases e dois ambientes (planície e encosta) da Floresta Ombrófila Densa, em Antonina-PR, e submetidas às condições de enraizamento. Análises químicas foram realizadas para a determinação da condição nutricional das plantas matrizes. Para as análises anatômicas, descritas no segundo capítulo, amostras de folhas e da base de estacas foram coletadas antes da instalação do experimento de estaquia e, após 60 dias no leito de enraizamento, foram coletadas amostras da base das estacas somente com calos, enraizadas sem calos e enraizadas e com calos. Para verificar a influência do potencial genético (terceiro capítulo), miniestacas foram coletadas de minicepas de nove matrizes, e confeccionadas com 2-4 cm de comprimento e um par de folhas na porção apical. Conclui-se que a estaquia de *Psychotria nuda* é viável em qualquer fenofase, sendo que em épocas com menor crescimento vegetativo se faz necessário um período maior que 60 dias no leito de enraizamento. Os melhores resultados para a iniciação e desenvolvimento de raízes adventícias ocorrem nas épocas em que as plantas matrizes apresentam maior quantidade de brotações foliares, chegando a 92% de enraizamento. Os ambientes apresentam efeitos sobre o processo de estaquia, onde, no geral, a encosta promoveu os melhores resultados para as variáveis principais relacionadas ao enraizamento. A nutrição mineral das matrizes influencia no processo de estaquia, sendo o comprimento das raízes prejudicado pelos maiores teores de Ca e B. As características anatômicas do caule de estacas coletadas em diferentes ambientes não apresentaram diferenças marcantes em relação a sua estrutura interna; entretanto, entre as folhas existem diferenças estruturais no mesófilo. Cristais de oxalato de cálcio prismáticos foram observados tanto em seções do caule como em folhas, os quais apresentam lamela lipídica recobrimo os cristais, não sendo encontradas referências na literatura sobre essa estrutura. As raízes adventícias são formadas diretamente do câmbio vascular e os calos formados na região cambial e na medula. Não foram detectadas barreiras anatômicas à indução radicial, indicando que esta espécie possui características anatômicas que facilitam a formação de raízes adventícias. O processo de formação e desenvolvimento de raízes adventícias em miniestacas de *Psychotria nuda* é influenciado pelas características genéticas das plantas matrizes, uma vez que as matrizes 41, 51 e 56 apresentaram superioridade na formação do sistema radicial em comparação aos demais. Já a formação de calos, sobrevivência e mortalidade de miniestacas não são influenciadas pelas características individuais das plantas matrizes.

**Palavras-chave:** Rubiaceae, nutrição, anatomia, características genéticas.

## ABSTRACT

The degree of success obtained in the vegetative propagation is determined through the relation of a variety of factors, such as: genotype, physiologic conditions of the stock plant, development environments variations and the season of the vegetative sample collection. Therefore, the aimed of this was to investigate the influence of different development environments of the sample plants, phenological characteristics, mineral nutrition and genetic potential in the process of root system formation of *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae). Furthermore, anatomically characterizing the vegetative material and the formation of adventitious roots. *Psychotria nuda*, with ornamental, ecological and pharmacist potential, is a native species from the Dense Ombrophylous Forest (dense tropical rain forest), occurring in the states of Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná and Santa Catarina. In the first chapter, stem cuttings were collected in four phenophases and two environments (plain and hillside) of the dense tropical rain forest, Antonina-PR, and them subject to rooting experiment conditions. Chemical analyzes were carried out in order to determine the nutritional status of the stock plants. For anatomical analyzes, described in the second chapter, samples of leaves and the base of cuttings were collected before the performance of the cutting experiment, after 60 days in rooting beds, samples were collected from the base of the cuttings only with callus, rooted without calluses and with roots and calluses. In order to verify the influence of the genetic potential (third chapter), micro-cuttings were collected from mini-stumps from nine stock plant, and prepared 2-4 cm long with only one pair of leaves in the apical portion. The cutting of *Psychotria nuda* is possible in any phenophase, however, during low vegetative growth seasons, it is necessary a greenhouse period greater than 60 days. The best results for the initiation and development of adventitious roots occur in times when the stock plants have a higher amount of leaf shoots, reaching 92% rooting. The environments have effects on the cutting process, where, in general, the hillside provided the best results for the main variables related to rooting. The mineral nutrition the stock trees play an important role in the process of cuttings, where the root length hindered by higher concentrations of Ca and B. The anatomical features of shut cuttings collected in different environments did not differ significantly to what regards their internal structure, however, amongst leaves there are structural differences in mesophyll. Prismatic Calcium oxalate crystals were observed both in sections of the stem and leaves, which exhibit lipidic lamellae overlying the crystals, were not found in literature references regarding the mentioned structure. The adventitious roots are formed directly from the vascular cambium and callus formed in the cambial region and medulla. Were not detected anatomical barriers to root induction, thus the results indicate that the specie has anatomical features which facilitate the formation of adventitious roots. The process of formation and development of adventitious roots in mini-cuttings of *Psychotria nuda* is influenced by genetic characteristics of stocks plants, where the genotypes 41, 51 and 56 showed superiority in the formation of the root system compared to the others. However, callus formation, survival and mortality of the mini-cuttings are not influenced by the individual characteristics of the stock plants.

**Key words:** Rubiaceae, nutrition, anatomy, genetic characteristics.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	12
LISTA DE FIGURAS.....	15
LISTA DE ANEXOS.....	18
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>20</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>23</b>
2.1. A ESPÉCIE.....	23
2.1.1. Características botânicas, ecológicas.....	23
2.1.2. Importância comercial e ecológica.....	25
2.1.3. Propagação da espécie.....	26
2.2. ESTAQUIA.....	27
2.2.1. Princípios anatômicos e fisiológicos do enraizamento.....	28
2.3. FATORES RELACIONADOS AO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS.....	31
2.3.1. Fatores inerentes à planta matriz.....	31
2.3.2. Fatores inerentes ao ambiente.....	37
2.4. CARACTERÍSTICAS DOS AMBIENTES DE ESTUDO.....	40
2.4.1. Formações vegetais.....	40
2.4.2. Solos.....	42
<b>3. CAPÍTULO I: <i>Psychotria nuda</i> (Cham. &amp; Schltdl.) Wawra: ENRAIZAMENTO E NUTRIÇÃO MINERAL DE MATRIZES EM DIFERENTES FENOFASES E AMBIENTES.....</b>	<b>45</b>
3.1. INTRODUÇÃO.....	47
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	49
3.2.1. Caracterização da área de estudo.....	49
3.2.2. Caracterização das plantas matrizes.....	51
3.2.3. Coleta do material vegetal.....	52
3.2.4. Confecção e tratamento das estacas.....	53
3.2.5. Variáveis analisadas .....	53
3.2.5.1. Variáveis biométricas.....	54
3.2.5.2. Variáveis nutricionais.....	54
3.2.6. Análise dos dados.....	56
3.2.6.1. Teste de comparação de médias.....	56
3.2.6.2. Correlações de Pearson .....	57
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
3.3.1. Variáveis biométricas.....	58

3.3.1.1.	Porcentagem de enraizamento e de estacas com calos.....	58
3.3.1.2.	Número e comprimento das raízes formadas.....	64
3.3.1.3.	Porcentagem de estacas vivas e mortas.....	67
3.3.1.4.	Porcentagem de estacas brotadas, número e comprimento das brotações.....	68
3.3.1.5.	Porcentagem de estacas com folhas originais.....	75
3.3.1.6.	Porcentagem de estacas enraizadas com formação de calos.....	80
3.3.2.	Variáveis nutricionais.....	83
3.3.2.1.	Matéria seca de 100 folhas.....	83
3.3.2.2.	Concentração de macronutrientes.....	85
3.3.2.3.	Concentração de micronutrientes.....	93
3.3.2.4.	Conteúdo de macronutrientes.....	99
3.3.2.5.	Conteúdo de micronutrientes.....	103
3.3.2.6.	Relação C/N.....	106
3.2.1.7.	Eficiência nutricional.....	107
3.3.3.	Correlações de Pearson a análise sistêmica.....	113
3.4.	CONCLUSÕES.....	117
	REFERÊNCIAS.....	120
<b>4. CAPÍTULO II: ANATOMIA DE ESTACAS CAULINARES COLETADAS EM DIFERENTES AMBIENTES DE DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS MATRIZES DE <i>Psychotria nuda</i> (Cham. &amp; Schltdl.) Wawra E FORMAÇÃO DE RAÍZES ADVENTÍCIAS.....</b>		<b>133</b>
4.1.	INTRODUÇÃO.....	135
4.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	138
4.2.1.	Caracterização do local e coleta e do material vegetal.....	138
4.2.2.	Procedimentos anatômicos.....	139
4.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	141
4.3.1.	Caracterização anatômica das bases das estacas.....	141
4.3.2.	Caracterização anatômica das folhas.....	148
4.3.3.	Caracterização anatômica da formação de raízes adventícias.....	156
4.4.	CONCLUSÕES.....	164
	REFERÊNCIAS.....	166
<b>5. CAPÍTULO III: INFLUÊNCIA DO FATOR GENÉTICO NO ENRAIZAMENTO DE MINISTACAS DE <i>Psychotria nuda</i> (Cham. &amp; Schltdl.) Wawra.....</b>		<b>173</b>
5.1.	INTRODUÇÃO.....	175
5.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	177
5.2.1.	Produção das minicepas.....	177

5.2.2. Miniestaquia.....	178
5.2.3. Variáveis avaliadas e análise dos dados.....	179
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	180
5.3.1. Sobrevivência e produtividade das minicepas.....	180
5.2.2. Miniestaquia.....	181
5.4. CONCLUSÕES.....	187
REFERÊNCIAS.....	188
<b>6. CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>193</b>
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>196</b>
REFERÊNCIAS.....	198
ANEXOS.....	212

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1	Resultados médios da análise química de solos com classificação equivalente aos solos das áreas de estudo e localizados na Reserva do Morro da Mina. (Fonte: SPVS, 2002).....	50
Tabela 1.2	Comportamento fenológico de <i>Psychotria nuda</i> nas épocas de coleta do material vegetal. Antonina-PR, 2009-2010.....	52
Tabela 1.3	Análise de variância (teste F) para porcentagens de estacas enraizadas e com calos de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases. ....	59
Tabela 1.4	Porcentagens de estacas enraizadas de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases....	60
Tabela 1.5	Coefficientes de correlação de Pearson (r) entre a porcentagem de matrizes com presença de brotações foliares e com flores e a porcentagem de enraizamento de estacas, para <i>Psychotria nuda</i> .....	61
Tabela 1.6	Porcentagens de estacas com calos de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases....	63
Tabela 1.7	Análise de variância (teste F) para número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes por estaca (cm) de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	64
Tabela 1.8	Número de raízes por estaca e comprimento médio das três maiores raízes por estaca (cm) de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	65
Tabela 1.9	Análise de variância (teste F) para porcentagem de estacas vivas e mortas de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	67
Tabela 1.10	Médias das porcentagens de estacas vivas e mortas de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	68
Tabela 1.11	Análise de variância (teste F) para porcentagem de estacas brotadas, número de brotações e comprimento médio das três maiores brotações por estaca (cm) de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	69
Tabela 1.12	Porcentagens de estacas brotadas de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	70
Tabela 1.13	Coefficientes de correlação de Pearson (r) entre a porcentagem de matrizes com presença de flores e frutos e a porcentagem de estacas brotadas, para <i>Psychotria nuda</i> .....	70
Tabela 1.14	Coefficientes de correlação de Pearson (r) entre a porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes por estaca (cm) e a porcentagem de estacas brotadas, para <i>Psychotria nuda</i> .....	72



Tabela 1.15	Número de brotações e comprimento médio das três maiores brotações por estaca (cm) de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	73
Tabela 1.16	Análise de variância (teste F) para porcentagens de estacas com permanência das duas folhas originais de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	75
Tabela 1.17	Porcentagens de estacas com permanência das duas folhas originais de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	76
Tabela 1.18	Coefficientes de correlação de Pearson (r) entre a porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes por estaca e a permanência de duas meias folhas, para <i>Psychotria nuda</i> .....	79
Tabela 1.19	Análise de variância (teste F) para porcentagens de estacas enraizadas com formação de calos de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	80
Tabela 1.20	Porcentagens de estacas enraizadas com formação de calos de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	81
Tabela 1.21	Coefficientes de correlação de Pearson (r) entre a porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes por estaca e a formação de calos em estacas enraizadas, para <i>Psychotria nuda</i> .....	82
Tabela 1.22	Análise de variância (teste F) para a matéria seca de 100 folhas de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	84
Tabela 1.23	Matéria seca de 100 folhas, em gramas, de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	84
Tabela 1.24	Análise de variância (teste F) para concentração de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	85
Tabela 1.25	Concentração foliar média de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio, em g/kg, de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	87
Tabela 1.26	Análise de variância (teste F) para concentração de boro, zinco, ferro e manganês de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases. ....	94
Tabela 1.27	Concentração foliar média de boro, zinco, ferro e manganês, em mg/kg, de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	97
Tabela 1.28	Análise de variância (teste F) para o conteúdo de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	99

Tabela 1.29	Conteúdo foliar médio de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio, em g/100 folhas, de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	101
Tabela 1.30	Análise de variância (teste F) para o conteúdo de boro, zinco, ferro e manganês de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	103
Tabela 1.31	Conteúdo foliar médio de boro, zinco, ferro e manganês, em mg/100 folhas, de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	105
Tabela 1.32	Análise de variância (teste F) para relação carbono/nitrogênio em folhas de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	107
Tabela 1.33	Relação média de carbono/nitrogênio, nas folhas de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	107
Tabela 1.34	Análise de variância (teste F) para a eficiência de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	108
Tabela 1.35	Eficiência foliar média de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio, por massa seca de 100 folhas, de <i>Psychotria nuda</i> para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	109
Tabela 1.36	Análise de variância (teste F) para a eficiência de boro, zinco, ferro e manganês de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	110
Tabela 1.37	Eficiência foliar média de boro, zinco, ferro e manganês, por massa seca de 100 folhas, de <i>Psychotria nuda</i> , para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.....	112
Tabela 3.1	Sobrevivência de minicepas e produtividade de brotações de <i>Psychotria nuda</i> por minicepa e por matriz, coletadas em setembro/2012.....	180
Tabela 3.2	Análise de variância (teste F) para porcentagem de miniestacas enraizadas, com calos, vivas e mortas provenientes de minicepas de <i>Psychotria nuda</i> , coletadas em setembro/2012.....	181
Tabela 3.3	Porcentagens de miniestacas enraizadas, com calos, vivas e mortas provenientes de minicepas de <i>Psychotria nuda</i> , coletadas em setembro/2012.	182
Tabela 3.4	Análise de variância (teste F) para o número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes (cm) por miniestaca provenientes de minicepas de <i>Psychotria nuda</i> , coletadas em setembro/2012.....	184
Tabela 3.5	Número de raízes e comprimento das três maiores raízes (cm) por miniestaca provenientes de minicepas de <i>Psychotria nuda</i> , coletadas em setembro/2012.....	185

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Perfil esquemático dos principais tipos de vegetação - Planície Litorânea, Serra do Mar e Primeiro Planalto paranaense (Leste-Oeste). Fonte: RODERJAN, C. V.....	42
Figura 2.1	Secções transversais de caule de <i>Psychotria nuda</i> clarificadas e coradas com safrablau. (A) - Vista geral periférica do corte; (B) - Detalhe evidenciando o tecido vascular; (C) - Detalhe da endoderme e estria de Caspary. <b>Ep</b> - epiderme; <b>pe</b> - parênquima externo; <b>ca</b> - colênquima angular; <b>pi</b> - parênquima interno; <b>fp</b> - fibras perivasculares; <b>ed</b> - endoderme; <b>Flp</b> - floema primário; <b>Fls</b> - floema secundário; <b>rf</b> - raios floemáticos; <b>c</b> - câmbio; <b>Xls</b> - xilema secundário; <b>M</b> - medula; <b>→</b> - cristais prismáticos.....	142
Figura 2.2	Secções transversais de caule de <i>Psychotria nuda</i> clarificadas e coradas com safrablau. (A) - Vista geral interna do corte; (B) - Detalhe evidenciando a medula e esclereides isolados e formando pequenos grupos. <b>M</b> - medula; <b>Fls</b> - floema secundário; <b>Xls</b> - xilema secundário; <b>→</b> - esclereides.....	144
Figura 2.3	Secções transversais de caule de <i>Psychotria nuda</i> coradas com sudan III. (A) - Vista geral externa do corte; (B) - Detalhe da deposição de cutícula nas células epidérmicas; (C) - Corte evidenciando cristais prismáticos nos espaços intercelulares do floema secundário; (D) - Cristais prismáticos formando pequenos grupos na medula; (E, F) - Detalhe dos cristais prismáticos no parênquima interno e medula respectivamente, evidenciando deposição de lamela lipídica recobrimdo a cavidade. <b>Ctx</b> - córtex; <b>M</b> - medula; <b>Fls</b> - floema secundário; <b>Xls</b> - xilema secundário; <b>→</b> - cristais prismáticos.....	147
Figura 2.4	Secções paradérmicas da epiderme abaxial de folhas de <i>Psychotria nuda</i> coradas com azul de toluidina. (A) - Vista geral da distribuição dos estômatos; (B) - Detalhe dos estômatos paracíticos. <b>cg</b> - células guarda; <b>cs</b> - células subsidiárias.....	149
Figura 2.5	Secções transversais do mesófilo das folhas de <i>Psychotria nuda</i> coradas com safrablau. (A, B) - Vista geral e detalhe do mesófilo de folhas provenientes de matrizes localizadas na encosta; (C, D) - Vista geral e detalhe do mesófilo de folhas oriundas de matrizes localizadas na planície. <b>Eps</b> - epiderme adaxial; <b>Pp</b> - parênquima paliçádico; <b>Pl</b> - parênquima lacunoso; <b>Epi</b> - epiderme abaxial; <b>dp</b> - divisão periclinal; <b>ce</b> - cristal estilóide.....	150

- Figura 2.6 Secções transversais de folhas de *Psychotria nuda* coradas com sudan III. (A) - Deposição de lipídios nas paredes periclinais externas da epiderme adaxial; (B) - Deposição de lipídios nas paredes periclinais externas da epiderme adaxial e detalhe da câmara subestomática; (C, D) - Detalhe da cutícula na região da nervura central face abaxial e nos bordos respectivamente; (E, F) - Detalhe de cristais prismáticos com evidencia da lamela lipídica distribuídos no parênquima da região abaxial da nervura e no floema do feixe vascular. **ct** - cutícula; **Eps** - epiderme adaxial; **Epi** - epiderme abaxial; **cse** - câmara subestomática; → - cristais prismáticos..... 152
- Figura 2.7 Secções transversais da região da nervura central de folhas de *Psychotria nuda* coradas com safrablau. (A) - Vista geral da nervura central; (B) - Detalhe do início do limbo foliar; (C) - Região adaxial da nervura central evidenciando o tecido colenquimático e parenquimático; (D) - Região abaxial da nervura central, detalhando o aerênquima, colênquima e parênquima; (E) - Vista geral do feixe vascular; (F) - Detalhe do tecido vascular, evidenciando fibras perivasculares, floema e xilema. **ca** - colênquima angular; **p** - parênquima; **ae** - aerênquima; **fp** - fibras perivasculares; **XI** - xilema; **FI** - floema; → - esclereides..... 155
- Figura 2.8 Secções transversais da base da estaca caulinares de *Psychotria nuda* após 60 dias da instalação do experimento, coradas com safrablau. (A) - Detalhe das primeiras divisões celulares a partir do câmbio; (B, C, D) - Início da organização do ápice radicial; (E) - Primórdio radicial superando o periciclo fibroso do cilindro vascular; (F) - Detalhe da organização celular do ápice radicial do tecido vascular. **c** - câmbio; **fp** - fibras perivasculares; **XI** - xilema; **FI** - floema; → - ápice da raiz adventícia..... 157
- Figura 2.9 Secções transversais da base da estaca caulinares de *Psychotria nuda* após 60 dias da instalação do experimento, coradas com safrablau. (A) - Raiz adventícia formada; (B, C) - Detalhe do ápice e da base da raiz adventícia respectivamente; (D) - Detalhe dos elementos de vaso com potoações areoladas. **Ep**- epiderme; **Ctx** - córtex; **tv** - tecido vascular; **cv** - conexão vascular; **ev** - elemento de vaso com pontoação areolada..... 159
- Figura 2.10 Secções transversais da base da estaca caulinares de *Psychotria nuda* após 60 dias da instalação do experimento, coradas com safrablau. (A) - Raiz adventícia em corte transversal evidenciando a formação de raízes secundárias; (B) - Detalhe da raiz adventícia em corte transversal demonstrando a conexão vascular com a raiz secundária; (C) - Grãos de amido no interior das células da raiz adventícia; (D) - Secção evidenciando a conexão vascular e formação de raiz secundária. **cv** - conexão vascular; **rs** - raiz secundária; **ga** - grãos de amido; → - raiz adventícia em corte transversal..... 161

- Figura 2.11 Secções transversais da base da estaca caulinares de *Psychotria nuda* após 60 dias da instalação do experimento, coradas com safrablau. **(A)** - Início da atividade cambial, com formação de células indiferenciadas; **(B)** - Crescimento do tecido dos calos pressionando os tecidos adjacentes; **(C)** - Rompimento do tecido epidérmico devido ao crescimento dos calos; **(D)** - Calo formado na região lesionada a partir da desdiferenciação de células da medula. **fp** - fibras periclinais; **rl** - região da lesão; **→** - calos..... 163

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Localização da Reserva Natural do Morro da Mina (Fonte: Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental).....	213
Anexo 2	Localização e tipo de solo das áreas de coleta no Reserva Natural do Morro da Mina (A) Ambiente encosta; (B) Ambiente planície. (Fonte dos mapas: Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental, Fonte das fotos: Ferreira, B. G. A., 2010).....	214
Anexo 3	Dados meteorológicos mensais de Antonina-PR durante o período de outubro/2009 a setembro/2010. (Fonte: SIMEPAR - Sistema Meteorológico do Paraná, 2010).....	215
Anexo 4	Médias históricas dos dados meteorológicos mensais de Antonina-PR durante o período de 1978 a 1999. (Fonte: IAPAR - Instituto Agrônomo do Paraná, 2011).....	215
Anexo 5	Dados de pluviosidade e temperaturas médias mensais durante período de outubro/2009 a setembro/2010 e médias históricas para Antonina-PR. (Fontes: SIMEPAR - Sistema Meteorológico do Paraná, 2010 e IAPAR - Instituto Agrônomo do Paraná, 2011).....	216
Anexo 6	Fotoperíodo médio mensal durante período de outubro/2009 a setembro/2010 para Antonina-PR. (Fontes: Observatório Nacional, 2011)....	217
Anexo 7	<i>Psychotria nuda</i> : (A) Planta matriz adulta, (B) Ramo; (C) Inflorescência com flor em antese; (D) Detalhes do gineceu e androceu de flor brevistila a direita e longistila a esquerda; (E) Infrutescência com fruto maduro e imaturo; (F) Detalhes do fruto maduro e sementes. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).....	218
Anexo 8	Caracterização dos ramos de <i>Psychotria nuda</i> em cada fenofase estudada: (A) Fenofase 1- primavera; (B) Fenofase 2 - verão; (C) Fenofase 3 - outono; (D) Fenofase 4 - inverno. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).....	219
Anexo 9	Porcentagem de matrizes com brotações foliares e florais, flores, frutos verdes e frutos maduros em cada fenofase de <i>Psychotria nuda</i> e em cada ambiente de desenvolvimento.....	220
Anexo 10	Esquema do processo de estaquia utilizada para a propagação vegetativa de <i>Psychotria nuda</i> . (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).....	221
Anexo 11	Esquema da metodologia para o processamento das amostras utilizadas para as análises nutricionais de <i>Psychotria nuda</i> . (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).....	222
Anexo 12	Esquema do processo de digestão via seca das amostras de <i>Psychotria nuda</i> para a determinação de P, K, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Mn e B. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).....	223
Anexo 13	Esquema do processo de combustão seca das amostras de <i>Psychotria nuda</i> para a determinação de N e C. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).....	224

Anexo 14	Caracterização das estacas de <i>Psychotria nuda</i> após 60 dias no leito de enraizamento (A) Estaca com formação de calos; (B) Detalhe da do calos; (C) Estaca enraizada com formação de calos; (D) Detalhe da base da estaca com raiz e calos; (E) Estaca enraizada sem a presença de calos; (F) Detalhe da base da estaca enraizada. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).....	225
Anexo 15	Matriz de correlação entre as concentrações foliares dos nutrientes minerais para <i>Psychotria nuda</i> . (n=160).....	226
Anexo 16	Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis biométricas e a concentração de macro e micronutrientes para <i>Psychotria nuda</i> , na fenofase 1 e nos dois ambientes de coleta. (n=20).....	227
Anexo 17	Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis biométricas e a concentração de macro e micronutrientes para <i>Psychotria nuda</i> , na fenofase 2 e nos dois ambientes de coleta. (n=20).....	228
Anexo 18	Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis biométricas e a concentração de macro e micronutrientes para <i>Psychotria nuda</i> , na fenofase 3 e nos dois ambientes de coleta. (n=20).....	229
Anexo 19	Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis biométricas e a concentração de macro e micronutrientes para <i>Psychotria nuda</i> , na fenofase 4 e nos dois ambientes de coleta. (n=20).....	230
Anexo 20	Esquema do processo anatômico para confecção de lâminas semipermanentes de secções de caule e folha de <i>Psychotria nuda</i> . (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).....	231
Anexo 21	Esquema do processo desde a produção de minicepas até a instalação da miniestquia utilizada para a propagação vegetativa de <i>Psychotria nuda</i> . (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).....	232
Anexo 22	Miniestacas enraizadas de <i>Psychotria nuda</i> após 40 dias no leito de enraizamento (A, B) Matriz 60; (C, D) Matriz 41; (E, F) Matriz 51. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).....	233

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A estaquia e a miniestaquia são técnicas de propagação vegetativa que não se restringem a remover um ramo da planta matriz e colocá-lo em um substrato para que ocorra o enraizamento. Essa descrição define de maneira geral as técnicas, mas diversos são os fatores que estão envolvidos no processo, os quais influenciam positivamente ou negativamente o resultado de indução radicial. Sendo assim, o grau de sucesso obtido na propagação vegetativa via estaquia é determinado pela relação entre diversos fatores tais como condições fisiológicas da planta matriz, variações nas condições climáticas, o genótipo, tipo e posição do propágulo na planta mãe, dentre outros (ZUFFELLATO-RIBAS e RODRIGUES, 2001; HARTMANN *et al.*, 2002).

Condições fisiológicas da planta matriz, tais como conteúdo de água, reservas de nutrientes, e balanço hormonal, sofrem ação direta da época do ano de coleta do material vegetal e do ambiente em que a planta matriz se encontra, os quais influenciam diretamente na formação de raízes adventícias (HARTMANN *et al.*, 2011). Nesse contexto, o estado nutricional da planta matriz, no momento da coleta do material vegetal, torna-se um fator fundamental no sucesso da propagação vegetativa via estaquia, uma vez que o estado nutricional determinará a quantidade de carboidratos e auxinas, dentre outros compostos metabólicos, fundamentais à iniciação radicial e à velocidade com que esta ocorre (MALAVASI, 1994; HIGASHI *et al.*, 2004).

De modo geral, qualquer nutriente envolvido nos processos metabólicos ligados a diferenciação e desenvolvimento de raízes adventícias é considerado essencial para o processo de formação do sistema radicial. Embora o enraizamento e a nutrição mineral estejam relacionados, evidencia-se uma carência de informações sobre a importância de determinados nutrientes, bem como sobre a nutrição das plantas doadoras de propágulos em geral, no processo de formação do sistema adventício de espécies nativas.

Os resultados de trabalhos sobre rizogênese adventícia em plantas nativas podem ser divergentes dentro de uma mesma espécie, sendo que essa resposta pode ser devido à coleta de material vegetal ter ocorrido em matrizes localizadas em diferentes ambientes (FERREIRA *et al.*, 2001; KNAPIK, *et al.*, 2003; PIMENTA *et al.*, 2005; BORTOLINI, 2006; FERRIANI, 2006; FERREIRA, 2008). Segundo esses autores, o objetivo principal foi a avaliação da resposta isolada de enraizamento para cada espécie; no entanto, estes perceberam que era de fundamental importância darem maior atenção à ação do ambiente de coleta e à fenofase em que se encontravam as plantas matrizes, pois estas interferem sensivelmente nas respostas



rizogênicas da propagação vegetativa. Variação na capacidade de enraizamento também foi verificada, em uma mesma época de coleta, comparando-se trabalhos realizados com *Psychotria nuda*; essa resposta pode ter ocorrido devido à coleta de material vegetal ser realizada em matrizes localizadas em diferentes ambientes (ZUFFELLATO-RIBAS; WITT, 2009; NERY, 2010).

Ainda que a facilidade ou não do enraizamento de estacas caulinares seja o resultado de um conjunto de fatores inerentes à planta matriz, como foi relatado anteriormente, não se pode excluir a importância da influência que a espécie, ou até mesmo de cultivares e variedades da mesma espécie, na capacidade de uma estaca formar raízes adventícias, destacando assim, o papel do potencial genético no processo (FACHINELLO *et al.*, 2005).

A escolha do propágulo utilizado para a realização da propagação depende do conhecimento das potencialidades e impedimentos dos tecidos vegetais (SILVA *et al.*, 2005). Sendo assim, o conhecimento da estrutura interna do caule permite detectar a dificuldade de enraizamento que, em alguns casos, ocorre pela presença de barreiras anatômicas à emissão dos primórdios radiciais, devido à existência de fibras e esclereídes no floema primário do caule das estacas, formando um anel contínuo na região cortical (ONO; RODRIGUES, 1996; REZENDE, 2007; LIMA, *et al.*, 2011).

Diante da importância dos fatores envolvidos, descritos acima, na formação de raízes adventícias, o presente trabalho teve como objetivos:

- Avaliar a influência de diferentes ambientes e das fenofases, em que se encontravam as plantas matrizes, no enraizamento de estacas caulinares de *Psychotria nuda*;
- Avaliar se existem diferenças na concentração e conteúdo de macro e micronutrientes foliares de matrizes de *Psychotria nuda* localizadas em diferentes ambientes de desenvolvimento e em fenofases distintas;
- Avaliar se existem diferenças na eficiência de conversão das matrizes localizadas em diferentes ambientes de desenvolvimento e em fenofases distintas;
- Determinar a correlação entre a concentração de macro e micronutrientes, obtidas por meio da análise nutricional, e as variáveis biométricas proveniente das avaliações dos experimentos de estaquia;
- Avaliar se a correlação entre as variáveis nutricionais e biométricas apresentam variações dependendo do ambiente de coleta e as fenofases;
- Descrever as características anatômicas de material vegetal oriundo de diferentes ambientes de coleta, além de identificar a origem das raízes adventícias em estacas de *Psychotria nuda*.

- Avaliar a influência do efeito do potencial genético de cada matriz no enraizamento de miniestacas.

O corpo do trabalho foi organizado em capítulos para facilitar a compreensão dos resultados obtidos. Inicialmente estão apresentados os dados referentes à estaquia e à nutrição mineral, seguidos pelos resultados das caracterizações anatômicas e posteriormente os dados obtidos no experimento visando testar potencial genético das matrizes no enraizamento de miniestacas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. A ESPÉCIE

#### 2.1.1. Características botânicas, ecológicas

*Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra pertence à família botânica Rubiaceae, a qual é composta por 650 gêneros com 13.000 espécies, sendo uma das maiores famílias de Angiospermas depois de Asteraceae, Orchidaceae e Fabaceae (ROBBRECHT *et al.*, 2012). As rubiáceas são árvores de grande, médio e pequeno porte, arbustos e ervas anuais ou perenes, raramente epífitas, distribuídas por todo o mundo, principalmente em regiões tropicais dos dois hemisférios (BARROSO *et al.*, 1991, CHIQUIERI *et al.*, 2004), constituindo um importante componente da vegetação lenhosa de sub-bosque de florestas tropicais (ROBBRECHT *et al.*, 2012). No Brasil, ocorrem cerca de 1.010 espécies, difundidas em 100 gêneros, com distribuição predominante na Floresta Ombrófila Densa. Essa diversidade de espécies faz com que essa família botânica seja um importante componente do patrimônio genético da biodiversidade brasileira (BARROSO *et al.*, 1991).

O gênero *Psychotria* L. possui 2.000 espécies, sendo o maior da tribo Psychotrieae e da família Rubiaceae, além de ser o maior gênero de espécies lenhosas. Apresenta folhas opostas decussadas, sub-sésseis ou, usualmente, pecioladas, sem ou com domácias. As estípulas são interpeciolares ou unidas ao redor do caule, formando um tubo, geralmente bilobadas de cada lado e persistentes ou decíduas. As inflorescências são terminais, às vezes axilares, de paniculadas a cimosas ou capitadas, bracteadas ou com brácteas reduzidas (TAYLOR *et al.*, 2007).

*Psychotria nuda* é uma árvore nativa do Brasil, encontrada na Floresta Ombrófila Densa da encosta atlântica dos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (DELPRETE *et al.*, 2005; TAYLOR, 2007). É uma espécie esciófita, higrófito, situada nos estratos inferiores de florestas primárias bem desenvolvidas (IZA, 2002; FERMINO JUNIOR *et al.*, 2004; GORENSTEIN, 2007, PRATA *et al.*, 2011), possuindo padrão de distribuição agregado com cerca de 144 indivíduos/ha (ALMEIDA; ALVES, 2000). A espécie é classificada segundo Oliveira (2002) como uma espécie secundária tardia e como clímax por Ramos *et al.* (2011); ambos os autores utilizaram critérios propostos por Budowski (1965). Schorn e Galvão (2006), os quais

seguiram o sistema de classificação proposto por Swaine e Whitmore (1988), classificam a espécie como clímax tolerante à sombra.

A espécie pode chegar até seis metros de altura, possui extremidade dos ramos cilíndrica, glabrescente, gema apical com tricomas, folhas de consistência sub-coriácea, de coloração verde escura, opostas, com forma lanceolada, base cuneada e ápice agudo, presença de cutícula lisa na face adaxial e na face abaxial, hipoestomáticas com estômatos paracíticos e presença de cera epicuticular, a qual também está presente em estípulas, frutos, pecíolos, ramos e sépalas (VIEIRA; GOMES, 1995; DELPRETE *et al.*, 2005; KLEIN *et al.*, 2007; TAYLOR, 2007). A superfície laminar de *Psychotria nuda* pode apresentar presença de hifas de fungos distribuídos pela superfície foliar, uma vez que ocorre em ambientes com alta umidade relativa e altos índices pluviométricos (VIEIRA; GOMES, 1995).

As inflorescências são terminais, com uma a seis flores tubulares, simpétalas, sinsépalas, nectaríferas e de ovário ínfero. As flores apresentam forma tubular de coloração amarela com cálice persistente e avermelhado e, como em outras espécies da família Rubiaceae, ocorre heterostília com flores longistilas e brevistilas (ALMEIDA; ALVES, 2000; CASTRO; ARAÚJO, 2004; ALMEIDA, 2005; DELPRETE *et al.*, 2005), onde os grãos de pólen viáveis são significativamente mais numerosos em flores longistilas que em brevistilas (ALMEIDA, 2005).

O ciclo fenológico é anual, exceto para a frutificação cujo ciclo é contínuo. A floração é classificada segundo sua duração como intermediária, ou seja, categorizada pela presença de flores de um até cinco meses (NEWSTRON *et al.*, 1994). O período de floração é relatado na literatura em períodos semelhantes, porém com pequenas diferenças, entre março e junho, no final da estação chuvosa (ALMEIDA; ALVES, 2000; ALMEIDA, 2005) e entre fevereiro e junho, com pico em abril (CASTRO; ARAÚJO, 2004; DELPRETE *et al.*, 2005).

Entretanto, em estudos sobre a floração de algumas espécies de Rubiaceae durante os anos de 1996 e 1998, *Psychotria nuda* apresentou pelo menos uma matriz em floração durante todos os meses. Embora a floração tenha sido constante, ocorreu diminuição na porcentagem de matrizes com flor durante os meses mais frios e de menor pluviosidade (MARTINGAJARDO; MORELLATO, 2003).

O fruto da espécie é do tipo drupóide (IZA, 2002) o qual, quando maduro, possui cor azul escuro e contém uma ou duas sementes por fruto. A frutificação é o evento fenológico com maior duração, ocorrendo ao longo de todo o ano, havendo maior quantidade de frutos maduros entre dezembro e fevereiro, coincidindo com os meses de maior pluviosidade, temperatura e fotoperíodo (ALMEIDA; ALVES, 2000; CASTRO; ARAÚJO, 2004;

ALMEIDA, 2005; DELPRETE *et al.*, 2005). Segundo os estudos realizados por Castro e Araujo (2004) e Almeida (2005), os frutos de *Psychotria nuda* podem permanecer imaturos por aproximadamente oito meses.

### 2.1.2. Importância comercial e ecológica

As *Psychotria* são empregadas na medicina popular de vários países, no tratamento de problemas de estômago, complicações do parto, disenteria, hemorragia menstrual, febres, problemas brônquicos, cólicas, constipação, hipertensão e afecções cutâneas (ADJIBADÉ *et al.*, 1991; LEAL, 1994; FRAGOSO, 2007). Na literatura, inúmeras atividades farmacológicas são descritas, dentre as quais se destacam a atividade antifúngica para *Psychotria mapourioides* DC. (MORENO *et al.*, 2004), atividade antiinflamatória, antimicrobiana e analgésica para *Psychotria myriantha* Müll Arg. (FARIAS, 2006) e ação do tipo opioíde para *Psychotria umbellata* (Vell.) e *Psychotria colorata* (Wild. Ex R. & S.) Müll Arg (LEAL, 1994; ELISABETSKY *et al.*, 1995).

Em adição a esses fatos, está o interesse etnobotânico atribuído ao gênero, o qual está associado ao conteúdo de dimetiltriptamina apresentado por *Psychotria viridis* Ruiz & Pav., utilizada no preparo da bebida alucinógena “ayahuasca”, juntamente com *Psychotria carthagenensis* Jacq. e *Banisteriopsis caapi* (Spr. Ex Griseb.) Morton (MCKENNA, 2004; PIRES *et al.*, 2010; DE SOUZA, 2011) Trata-se de uma decocção utilizada por nativos da Amazônia em rituais religiosos, para fins medicinais e sociais (ELIZABETSKY *et al.*, 1995; LEAL; ELIZABETSKY, 1996; PIRES *et al.*, 2010).

Dentre as espécies do gênero, *Psychotria ipecacuanha* é mundialmente utilizada na indústria de fármacos, pois produz os alcalóides isoquinolínicos emetina e cefalina, os quais possuem atividade amebicida, expectorante e emética (FRANÇA, 2007). Além dos alcalóides isoquinolínicos, vários outros já foram isolados de espécies de *Psychotria* como os indol-monoterpênicos e alcalóides polindólicos, demonstrando diversidade estrutural e grande número de compostos ativos (FARIAS, 2006).

Somado ao potencial farmacêutico, *Psychotria nuda* apresenta características potenciais para sua utilização ornamental, por possuir vistosas flores amarelas, com cálice vermelho e frutos cor anis (DELPRETE *et al.*, 2005).

Exemplares do gênero *Psychotria* também desempenham importante papel ecológico como fonte de néctar e frutos para os animais, fazendo parte dos recursos usados pela fauna (ALMEIDA; ALVES, 2000), como em *Psychotria nuda*, sendo suas flores visitadas

principalmente por beija-flores do gênero *Thalurania*, além de insetos das ordens Hymenoptera (gêneros *Euglossa* e *Trigona*) e Lepidoptera (gênero *Oleria*) (ALMEIDA; ALVES, 2000; ALMEIDA, 2005). Castro e Araújo (2004), estudando *Psychotria nuda*, identificaram outros gêneros de beija-flores como polinizadores, *Ramphodon* e *Phaethornis*. Por sua abundante presença em áreas de Floresta Ombrófila Densa e pela floração maciça, que atrai diversos visitantes florais, *Psychotria nuda* apresenta um importante status ecológico nas regiões em que ocorre (CASTRO; ARAUJO, 2004).

### 2.1.3. Propagação da espécie

Para a propagação sexuada, nenhuma referência na literatura sobre *Psychotria nuda* foi encontrada, somente para outras espécies do gênero. Para *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes foi relatado que sua propagação por sementes não é recomendada, em virtude da baixa e demorada germinação que se inicia de três a seis meses após o plantio (LAMEIRA, 2002), além de ocorrer perda de viabilidade das sementes após estocagem (CHATERJEE, 1993). Para *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schlecht conseguiu-se porcentagem máxima de germinação de 66%, na temperatura de 25°C (ROSA; FERREIRA, 2001). Para *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg., o início da germinação ocorre 88 dias após a semeadura (PIETROBOM *et al.*, 2010).

Relatos sobre a propagação assexuada de *Psychotria nuda* são raros na literatura. Segundo Zuffellato-Ribas e Witt (2009), a espécie apresenta enraizamento extremamente promissor, mesmo sem o uso de IBA (85,0%); além disso, o número e comprimento de raízes por estaca não foi aumentado pelo uso da auxina ácido indol butírico (IBA). Conforme os mesmos autores, a primavera foi a estação que apresentou os maiores resultados para a formação de raízes adventícias em estacas, com 95% de enraizamento com 3000 mg L<sup>-1</sup> e 6000 mg L<sup>-1</sup> IBA. Nery (2010) também relata a facilidade de formação de raízes adventícias da espécie, além de observar que estacas confeccionadas com folhas são mais propícias para a indução radicial. A primavera e verão, segundo o autor, são as melhores épocas para a coleta do material vegetal, apresentando 77,1% e 58,8% respectivamente, respectivamente.

## 2.2. ESTAQUIA

A propagação vegetativa por estaquia é frequentemente adotada em viveiros para a produção comercial de diversas plantas ornamentais, medicinais e frutíferas, possuindo como princípio a promoção do enraizamento adventício a partir de segmentos destacados da planta matriz que, submetidos a condições favoráveis, originam uma nova planta completa (FERRARI *et al.*, 2004; HARTMANN *et al.*, 2011).

No caso da estaquia caular, é preciso regenerar novo sistema radicial, visto que os propágulos já possuem um sistema caular em potencial, ou seja, presença de gemas (FERRARI *et al.*, 2004; HARTMANN *et al.*, 2011). As novas raízes formadas são denominadas adventícias, pois são formadas de tecidos diferenciados independente da radícula do embrião, e sua formação é um processo anatômico e fisiológico complexo (ALFENAS *et al.*, 2004). As raízes adventícias podem ser divididas em latentes e induzidas. As raízes latentes comumente apresentam-se dormentes até que os caules sejam seccionados em estacas, e quando colocadas sob condições favoráveis, ocorre a emergência de primórdios radiciais, podendo, surgir antes mesmo da confecção das estacas. Já as raízes induzidas desenvolvem-se apenas depois das estacas serem cortadas, em resposta ao corte (HARTMANN *et al.*, 2011).

A capacidade de formação de raízes, a qualidade do sistema radicial formado e o desenvolvimento da planta propagada são fatores que influenciam a viabilidade da estaquia (PIO *et al.*, 2006). Quando a utilização da técnica possui o objetivo de seleção de matrizes visando à clonagem, as plantas devem conter características desejadas. Porém, quando o objetivo é a produção de mudas para fins ambientais, com genótipos variados, devem-se selecionar indivíduos não aparentados, localizados a certa distância uns dos outros, a fim de produzir mudas com genótipos distintos (SILVA, 2007).

Em algumas espécies, o início da formação de raízes adventícias não necessita de qualquer tratamento, enquanto outras necessitam da aplicação de reguladores vegetais, normalmente auxinas, para que o processo se inicie (SYROS *et al.*, 2004). Essa diferença ocorre, pois a propagação via estaquia depende de diversos fatores relacionados ao enraizamento, variando para cada espécie, sendo que a facilidade ou não de enraizar é explicada pelo conhecimento dos fatores relacionados à planta matriz (intrínsecos), fatores ambientais (extrínsecos) e fatores relacionados à técnica (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; FERRARI *et al.*, 2004, ALFENAS *et al.* 2004; FERRIANI, 2009; HARTMANN *et al.*, 2011).

Nesse contexto, grupos de plantas podem ser classificados em relação ao enraizamento de estacas, em três tipos (HARTMANN *et al.*, 2011):

- 1) Plantas de fácil enraizamento, as quais apresentam em seus tecidos todas as substâncias necessárias ao enraizamento, inclusive auxinas, ocorrendo rápida formação de raiz;
- 2) Plantas relativamente fáceis de enraizar, onde os cofatores (carboidratos, compostos nitrogenados, incluindo-se aminoácidos e enzimas; compostos fenólicos, tais como ácidos cafeíco, catecol e ácido clorogênico; e compostos inorgânicos) estão presentes, mas as auxinas são limitantes, sendo necessário o suplemento de auxinas exógenas para o aumento do enraizamento;
- 3) Plantas de difícil enraizamento, em que um ou mais cofatores estão ausentes, podendo apresentar ausência ou não de auxinas e, mesmo com a adição exógena das mesmas, pode ou não ocorrer resposta ao enraizamento adventício.

### **2.2.1. Princípios anatômicos e fisiológicos do enraizamento**

A formação de raízes adventícias em estacas ocorre por meio de modificações morfológicas e fisiológicas complexas (CARVALHO *et al.*, 2007), sendo o processo iniciado pela desdiferenciação das células adultas, ou seja, a capacidade das células diferenciadas e desenvolvidas iniciarem divisões celulares e formarem um novo ponto de crescimento meristemático. Ainda que todas as plantas apresentem capacidade de regenerar órgãos a partir de células indiferenciadas, verifica-se que essa característica é acentuada em algumas células e em algumas partes da planta (FACHINELLO *et al.*, 2005; HARTMANN *et al.*, 2011).

De modo geral, os tecidos que originam as raízes adventícias variam desde células parenquimáticas de caules, em estrutura primária ou secundária, do câmbio, de células especializadas, como células do parênquima do floema, ou dos calos produzidos na base da estaca. Essa diferença possivelmente está associada à espécie propagada e a técnica utilizada (HARTMANN *et al.*, 2011). Em caules jovens de *Ginkgo biloba* L, as raízes normalmente se formam no parênquima interfascicular, enquanto nos caules maduros iniciam-se nos raios vasculares próximos ao câmbio, sendo percebíveis conexões vasculares entre as raízes formadas e o sistema condutor da estaca (BITENCOURT, 2006). Para *Mytenus muelleri* Schwacke, a origem das raízes ocorreu externamente ao xilema, provavelmente a partir do câmbio ou do periciclo, apresentando conexão vascular com o cilindro central após 365 dias no leito de enraizamento (LIMA *et al.*, 2011). Frassetto (2007), trabalhando com *Sebastiania*



*schottiana* Müll. Arg., também relatou a formação de raízes próxima ao cilindro vascular, as quais desenvolveram-se por intrusão junto aos tecidos parenquimáticos, com rompimento da epiderme caulinar e com células já em processo de diferenciação.

Entretanto, a definição, a natureza e a determinação das diferentes etapas do processo de formação de raízes adventícias não são consensuais, tão pouco, a definição da sequência exata dos eventos no tempo e no espaço (BLAKESLEY *et al.*, 1991). O enraizamento de estacas caulinares pode ser dividido, genericamente, em quatro etapas de mudanças anatômicas, sendo elas: 1) desdiferenciação celular; 2) multiplicação de células desdiferenciadas próximas ao feixe vascular; 3) desenvolvimento em primórdios radiciais organizados; 4) e desenvolvimento e emergência dos primórdios através do tecido cortical da estaca, com posterior formação de conexões vasculares entre os primórdios e os tecidos condutores (FACHINELLO *et al.*, 2005; HARTMANN *et al.*, 2011).

À medida que o primórdio radicial aumenta de comprimento, possivelmente secreta enzimas que auxiliam na sua penetração no córtex e, durante esse crescimento, desenvolve-se a coifa, o meristema apical e se iniciam os meristemas primários. A conexão vascular ocorre posteriormente, através da diferenciação das células do periciclo, na região proximal do primórdio (FACHINELLO *et al.*, 2005; RAVEN *et al.*, 2007). Em *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn., a conexão vascular entre a raiz adventícia e a estaca foi observada após 24 dias no leito de enraizamento, comprovando a funcionalidade da mesma quanto à sua capacidade de absorção (BORTOLINI *et al.*, 2008).

A formação de raízes adventícias na estaca inicia-se em resposta ao efeito da lesão sofrida no momento da confecção da mesma. As células da superfície lesionada, quando colocadas em condições ambientais favoráveis ao enraizamento, iniciam um processo de cicatrização e regeneração, por meio da atividade de células presentes na região, que consequentemente darão origem a uma massa de células parenquimatosas pouco diferenciadas, desorganizadas e com diferentes graus de lignificação, chamada calos (HARTMANN *et al.*, 2011).

As primeiras raízes aparecem com frequência por meio dos calos, levando à suposição de que seu desenvolvimento é essencial para o enraizamento. No entanto, na maioria das plantas, a formação de calos e de raízes adventícias são processos independentes, sendo que sua ocorrência simultânea deve-se a similaridade das condições favoráveis para ambos. Existem relatos que o excesso da formação de calos na base da estaca impede a formação de raízes na mesma (HARTMANN *et al.*, 2011). Noor Camellia *et al.*, (2009) relatam que a

formação de raízes adventícias em *Jatropha curcas* L. ocorreu diretamente da endoderme, próximo ao feixe vascular e fora do câmbio, independente da formação de calos.

A importância do conhecimento da estrutura interna do caule da espécie utilizada na estaquia é de grande importância, pois permite desvendar o insucesso do enraizamento que, em alguns casos, ocorre pela presença de barreiras anatômicas à emergência dos primórdios radiciais, ou seja, desenvolvimento de fibras e esclereídes, formando um anel contínuo na região cortical do caule (LIMA *et al.*, 2011; HARTMANN *et al.*, 2011). O enraizamento de estacas semilenhosas de pessegueiro é favorecido pelo corte lateral da casca das estacas, e que essas lesões permitem que ocorra o rompimento de uma possível barreira física formada por anéis de esclerênquima, favorecendo a emergência das raízes (CARVALHO *et al.*, 2007).

Todo o processo de organogênese da raiz adventícia ocorre devido o tecido lesionado tender a entrar em divisão celular, o qual ocorre devido ao acúmulo natural de substâncias necessárias para o processo, como auxinas e carboidratos, junto ao feixe vascular, sendo essas substâncias transportadas do ápice para a base da estaca, além da produção de etileno e aumento na taxa de respiração (HARTMANN *et al.*, 2011). O processo é iniciado pela interação entre essas substâncias presentes nos tecidos da base da estaca (MINDELLO NETO, 2006), onde cada etapa do processo é marcada, como foi visto anteriormente, por uma sequência de eventos histológicos, apresentando diferentes exigências hormonais (HARTMANN *et al.*, 2011).

Associando os aspectos anatômicos e fisiológicos, pode-se sugerir uma divisão da ontogênese das raízes adventícias em quatro fases (HARTMANN *et al.*, 2011):

- 1) Indução, definida como o período que abrange as reações bioquímicas necessárias para a iniciação das divisões celulares;
- 2) Iniciação, em que ocorre a desdiferenciação celular seguida de divisões, a qual pode ser favorecida pelas auxinas e inibida por polifenóis e giberelinas;
- 3) Organização e crescimento do primórdio, o qual pode ser inibido por auxinas e favorecido por polifenóis e giberelinas nos estágios iniciais;
- 4) Alongamento do primórdio radicial, caracterizado por seu crescimento através do córtex; emergência através da epiderme; e conexão do sistema vascular da raiz com o do caule.

Outros aspectos fisiológicos envolvidos no enraizamento, como balanço hormonal e cofator do enraizamento, serão abordados posteriormente, no item que trata sobre os fatores envolvidos no processo.

### 2.3. FATORES RELACIONADOS AO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS

Dentre os principais fatores que influenciam a formação de raízes adventícias em estacas, tem-se a condição fisiológica da planta matriz (presença de carboidratos, substâncias nitrogenadas, balanço hormonal, nutrientes minerais e compostos fenólicos) (HARTMANN *et al.*, 2011), o genótipo (SOUZA; LIMA, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2008), a posição das estacas nos ramos (LIMA *et al.*, 2006; GARBUIO *et al.*, 2007), o comprimento e diâmetro da estaca (LIMA *et al.*, 2010; MARCHESI *et al.*, 2010), a presença de folhas e gemas (FOCHESATO *et al.*, 2006; PIO *et al.*, 2006; GARBUIO *et al.*, 2007; SASSO *et al.*, 2010), grau de lignificação (NOOR CAMELLIA *et al.*, 2009) e a idade do ramo (BASTOS *et al.*, 2009). Em adição aos fatores relacionados à planta matriz, tem-se a influência de fatores ambientais como variações de temperatura, umidade e fotoperíodo, e o local de desenvolvimento das plantas matriz (ALFENAS *et al.* 2004; NEVES, *et al.*, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2008; HARTMANN *et al.*, 2011).

Além dos fatores citados acima, os métodos utilizados no processo de estaquia também interferem na resposta do enraizamento adventício. Esses fatores são a composição do substrato utilizado (BONA *et al.*, 2005), o uso de reguladores de vegetais (NEVES *et al.*, 2006; NOOR CAMELLIA *et al.*, 2009, ALCANTARA *et al.*, 2010) e o meio de cultivo (PIO *et al.*, 2006; BASTOS *et al.*, 2009).

De modo geral, o conhecimento da interação entre esses fatores permite melhor explicar as causas do enraizamento, ou seja, quanto mais difícil o enraizamento de uma espécie, maior será a importância dos fatores envolvidos (FACHINELLO *et al.*, 2005).

#### 2.3.1. Fatores inerentes à planta matriz

Os hormônios vegetais são substâncias orgânicas capazes de causar um efeito fisiológico em baixas concentrações, cuja ação se inicia com sua ligação a um receptor específico de membrana, desencadeando uma série de reações bioquímicas (RAVEN *et al.*, 2007). São produzidos em um local da planta e translocados para outros locais distantes (tecidos ou órgãos), podendo exercer sua ação sobre o crescimento e desenvolvimento da planta. Atualmente, são conhecidas seis classes de hormônios vegetais: auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico, etileno e brassinoesteróides (TAIZ; ZEIGER, 2010), além disso, outras substâncias podem adquirir o status de hormônios, como o ácido salicílico e o jasmonato que são mais conhecidos como sinalizadores de estresse (DE KLERK, 1999).

Mesmo que a formação de raízes adventícias seja influenciada por várias substâncias, as auxinas são as que possuem maior efeito. A auxina foi o primeiro grupo de hormônios vegetal isolado e quimicamente identificado por ácido indol-3-acético (IAA), em meados da década de 30. Além do IAA, outras auxinas são encontradas naturalmente nas plantas, porém em menores quantidades, como ácido indol-3-butírico (IBA), onde juntas, formam os exemplos conhecidos das auxinas. A biossíntese desses hormônios ocorre principalmente os tecidos com rápida divisão celular e alto crescimento, especialmente em partes aéreas, e sua degradação se dá por meio enzimático ou por foto-oxidação (TAIZ; ZEIGER, 2010; HARTMANN *et al.*, 2011).

O IAA pode ser encontrado naturalmente nas plantas nas formas livre ou conjugada, sendo biologicamente ativo na sua forma livre. Entretanto, a grande maioria é encontrada ligada covalentemente a moléculas de baixo e alto peso molecular. Por sua vez, a conjugação do IAA permite que a auxina fique inativa em termos funcionais, porém prontas para tornarem-se ativas novamente por meio da conversão do IAA-conjugado em IAA-livre, servindo assim como fonte de auxina durante a maior parte do processo de enraizamento (RIOV, 1993). A conjugação do IAA por meio de ligações covalentes entre seu grupo carboxílico e aminoácidos, peptídeos ou açúcares, formam substâncias menos suscetíveis à degradação enzimática, atuando também no transporte da auxina (FOGAÇA, 2003).

A concentração de IAA requerida no processo de enraizamento varia de acordo com a etapa de formação das raízes, sendo que altas concentrações de auxina são necessárias nos primeiros eventos do enraizamento sendo posteriormente inibitórias para a organização dos primórdios radiciais e subsequente crescimento. Nesse contexto, verifica-se a importância da isoenzima IAA-oxidase na regulação endógena da concentração da auxina (KAWAI *et al.*, 2004). Estudando a atividade da IAA-oxidase durante o enraizamento de três espécies de *populus*, Günes (2000), verifica baixa atividade da enzima durante os períodos iniciais da formação das raízes adventícias, aumentando gradativamente no decorrer do processo, confirmando o papel regulatório da enzima na concentração de IAA.

Do mesmo modo que a concentração de auxinas no processo de iniciação radicial é fundamental, a existência de um adequado balanço hormonal endógeno, especialmente entre auxinas, giberelinas e citocininas, ou seja, um equilíbrio entre promotores e inibidores do processo, é de extrema importância (GONTIJO *et al.* 2003). Uma alta relação auxina/citocinina favorece a formação de raízes adventícias, enquanto uma baixa relação favorece a formação de brotações. Sendo assim, estacas de espécies que apresentam

naturalmente um nível elevado de citocininas têm maior dificuldade em enraizar do que aquelas com níveis baixos (TAIZ; ZEIGER, 2010).

As giberelinas causam inibição da formação de raízes, provavelmente por estimularem o crescimento vegetativo, o qual compete com a formação de raízes. Esse efeito parece depender da fase de desenvolvimento do enraizamento e das condições ambientais a que são submetidas às estacas, fazendo com que muitas vezes sua ação na formação de raízes seja confusa. O ácido abscísico ajuda a inibir a ação das giberilinas no enraizamento, auxiliando assim no enraizamento, entretanto seu efeito ainda é contraditório. O etileno possui uma interação sinérgica com as auxinas, o qual regula as divisões celulares durante a formação das raízes, sendo que a promoção do enraizamento pelo etileno ocorre preferencialmente em plantas inteiras do que em estacas, em plantas herbáceas do que lenhosas, e em plantas que têm raízes iniciais pré-formadas (HARTMANN *et al.*, 2011).

A indução do sistema radicial não é somente provocada pela ação da auxina e seu balanço com outros hormônios vegetais. Uma série de outras substâncias, de ocorrência natural, atua em conjunto com as auxinas, sendo elas carboidratos, compostos secundários nitrogenados, compostos fenólicos e nutrientes minerais. Essas substâncias são conhecidas como cofatores do enraizamento, sendo sintetizadas em gemas e em folhas jovens (FACHINELLO *et al.*, 2005).

Carvalho *et al.* (2007) classificaram os compostos fenólicos, em três grupos: os monohidroxifenóis (ácido salicílico, ácido p-cumárico, ácido p-hidroxibenzóico), os quais possuem um grupamento hidroxila, e os orto-di-hidroxifenóis (ácido caféico, ácido ferúlico) e tri-hidroxifenóis (ácido gálico, ácido sinápico), ao quais possuem dois e três hidroxilas respectivamente. O primeiro grupo, denominado genericamente de monofenóis, é formado por compostos que aumentam a atividade do sistema IAA-oxidase, diminuindo a concentração de IAA endógeno, inibindo assim o enraizamento de estacas. Já o segundo e terceiro grupos, chamados de polifenóis, diminuem a atividade da IAA-oxidase, aumentando a concentração do IAA endógeno e estimulando a formação de raízes adventícias (KEVERS *et al.*, 1997; DE KLERK *et al.*, 1999; FOGAÇA, 2003; BORTOLINI, 2006; MAYER *et al.* 2006).

De acordo com HARTMANN *et al.* (2011), existe uma relação entre o potencial de enraizamento e o conteúdo de carboidratos presentes nas estacas de algumas espécies. Esses compostos servem como fonte de energia e produção de esqueletos carbônicos necessários para a produção de novos tecidos, além de fornecerem energia metabólica para a biossíntese de substâncias essenciais à formação de raízes, como ácidos nucleicos e proteínas. Assim,

baixas quantidades de reservas não fornecem a energia necessária para que ocorra o processo de enraizamento (MAYER *et al.*, 2006). Já estacas com altos teores de carboidratos, normalmente apresentam melhores porcentagens de enraizamento (FACHINELLO *et al.*, 2005; HARTMANN *et al.*, 2011). Em alguns casos a concentração desses compostos não é fator limitante ao enraizamento, resultado verificado por Bortolini *et al.* (2008), os quais encontraram as maiores concentração de carboidratos em estacas de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) coletadas nas estação do outono e inverno, sendo que nessas épocas o enraizamento foi menor comparado às demais estações, comprovando a ausência de correlação entre a porcentagem de enraizamento e a concentração de carboidratos presentes em estacas.

Uma das condições fisiológicas que interfere na formação de raízes adventícias é o estado nutricional das plantas matrizes no momento da coleta do material vegetal, sendo um fator determinante no sucesso da propagação vegetativa via estaquia, uma vez que o estado nutricional determinará a quantidade de carboidratos, auxinas, e outros compostos metabólicos, fundamentais à iniciação radicial e à velocidade com que esta ocorre (MALAVASI, 1994; HIGASHI *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2010). Malavasi (1994) reafirma a estreita relação entre a nutrição mineral e o enraizamento; no entanto, a importância de vários nutrientes no processo ainda não está totalmente esclarecida, visto à dificuldade de isolar os fatores que controlam o processo de formação de raízes adventícias, em virtude de sua complexidade e da grande interação existente entre os mesmos (ASSIS; TEIXEIRA, 1998). Sendo assim, mesmo que o enraizamento e a nutrição mineral estejam relacionados, poucos estudos têm sido conduzidos visando caracterizar os efeitos dos nutrientes sobre o processo de formação do sistema adventício.

De forma genérica, qualquer nutriente envolvido nos processos metabólicos, associados à diferenciação e formação de sistema radicial, é considerado essencial para o enraizamento. Consequentemente, o fator nutricional tem influência direta, uma vez que nutrientes estão envolvidos nos mais diversos processos bioquímicos (MALAVASI, 1994; CUNHA *et al.* 2009). Os nutrientes minerais possuem funções essenciais e específicas no metabolismo vegetal podendo agir como constituinte da estrutura orgânica, ativadores de reações enzimáticas, carreadores de cargas e osmorreguladores (DECHEN; NACHTIGALL, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2010). Sendo assim, o estado nutricional das plantas matrizes desempenha papel determinante na fase de indução e de formação de raízes adventícias, gerando respostas distintas (SCHWAMBACH *et al.*, 2005).

A mobilização de nutrientes minerais durante a iniciação radicial é diferente da mobilização que ocorre durante o crescimento e desenvolvimento da raiz, sendo mais

acentuada nesta última fase. Esta observação sugere que a influência da nutrição mineral na iniciação radicial é altamente dependente dos níveis iniciais dentro daquela porção da estaca onde as raízes serão formadas (CUNHA *et al.* 2009).

Embora todos os nutrientes minerais participem do metabolismo em alguma etapa do processo de enraizamento, alguns são citados com maior frequência na literatura, sendo eles o nitrogênio, cálcio, boro, ferro, zinco e o manganês. Hartmann *et al.* (2011) relatam que uma alta relação carbono/nitrogênio (C/N) nos tecidos das estacas promove o enraizamento, referindo também que diferentes relações C/N são, essencialmente, devidas ao nitrogênio mais do que ao carbono, e que a concentração de nitrogênio está negativamente correlacionada com o enraizamento, o que sugere que a elevada correlação entre a relação C/N e o enraizamento deve-se ao baixo nível de nitrogênio. O cálcio é indispensável nos processos de alongamento celular, desintoxicação dos íons de hidrogênio e divisão celular (EPSTEIN; BLOOM, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2010), além de estar relacionado com a capacidade de coordenação, promovendo estabilidade e ligações intermoleculares reversíveis, predominantemente na membrana plasmática e na parede celular (MARSCHNER, 1995).

Com relação ao boro relata-se que algumas das prováveis implicações de sua presença na célula vegetal estejam relacionadas à divisão celular, ao aumento do tamanho das células e ao transporte de carboidratos da folha para outros órgãos (MALAVOLTA, 2006), além de aumentar a atividade de IAA-oxidase (HARTMANN *et al.*, 2011). O ferro participa da biossíntese de enzimas com grupamento heme, como as peroxidases, as quais são fundamentais na indução e no crescimento de raízes adventícias (KIRKBY; ROMHELD; 2007). Segundo Hartmann *et al.* (2011), o zinco pode promover a formação do precursor da auxina, o triptofano que, por sua vez, irá produzir IAA, e o manganês atua como um ativador da enzima IAA-oxidase.

Os tipos de estacas caulinares podem ser abordados segundo seu grau de lignificação e posição de retirada do ramo. Além da classificação em relação ao grau de lignificação (lenhosas, semilenhosas e herbáceas), as estacas podem ser também classificadas em basais, medianas e apicais, de acordo com a localização de retirada do ramo. Em complemento, as estacas podem apresentar variações segundo o comprimento, diâmetro e presença de folhas.

Para a maioria das espécies de plantas, as estacas herbáceas e semilenhosas enraízam com mais facilidade do que as estacas lenhosas (LIMA *et al.*, 2006; HARTMANN *et al.*, 2011). De acordo com Tofanelli *et al.* (2001), este comportamento ocorre pois estacas herbáceas e semilenhosas apresentam tecidos mais sensível à ação dos hormônios e também por serem menos lignificadas, quando comparadas a estacas lenhosas e, deste modo, não

apresentam anel esclerenquimático entre o floema e o córtex, o qual poderiam constituir uma barreira à emergência das raízes.

A manutenção de folhas no momento da confecção das estacas é um dos fatores que, segundo Hartmann *et al.* (2011), exerce grande estímulo à iniciação de raízes. Este efeito está relacionado à translocação de carboidratos para a base da estaca, além de auxinas e cofatores importantes para o processo de enraizamento. Além da formação de raízes adventícias, a presença de folhas durante o período de enraizamento também está associada ao desenvolvimento das raízes (FRANCO *et al.*, 2007) e a sobrevivência das estacas (FOCHESATO *et al.*, 2006). Entretanto, apesar da importância da translocação de carboidratos das folhas para a base, estacas sem a presença de folhas podem apresentar bons resultados dependendo da espécie, sendo vantajosa na estaquia por diminuir a desidratação, devido à diminuição da área exposta, possibilitando inclusive a não utilização da nebulização intermitente (BONA *et al.*, 2002). Nesse contexto, Garbuio *et al.* (2007) relatam que a posição da estaca no ramo, o grau de lignificação, o tamanho a ser usado e a presença ou ausência de folhas, são fatores que precisam ser bem definidos quando se deseja propagar uma espécie por estaquia, pois a escolha inadequada das estacas pode resultar em elevadas taxas de mortalidade e inviabilizar o processo de propagação.

Ainda que a facilidade ou não de enraizamento de estacas caulinares seja o resultado de um conjunto de fatores, não se pode excluir a importância da influência que a espécie, ou até mesmo as cultivares e variedades da mesma espécie, na capacidade de uma estaca formar raízes adventícias, enfatizando assim, o papel do potencial genético no processo (FACHINELLO *et al.*, 2005). O estudo do potencial genético sobre a formação de raízes adventícias até o momento foi verificado para espécies florestais ou frutíferas com importância econômica; entretanto para espécies nativas de importância ecológica, os estudos sobre métodos de propagação vegetativa não devem desconsiderar a influência desse fator, uma vez que a formação do sistema radicial é dependente do genótipo de cada indivíduo dentro de uma mesma espécie.

Biasi *et al.* (2000), testando o enraizamento de estacas de três cultivares de pessegueiro, verificaram porcentagens de enraizamentos de 20%, 75% e 91,2%. Já Rufato e Kersten (2000), trabalhando com a mesma espécie, porém com diferentes cultivares, observaram 35 % e 63 % de enraizamento, sendo clara a influência do fator genético dentro de uma mesma espécie, na formação de raízes adventícias.

Tonietto *et al.* (2001) avaliando dois cultivares de ameixeira, observaram a maior porcentagem de enraizamento de 99% e a menor apresentando 10%, ambas utilizando a



mesma metodologia experimental. A grande variação observada nas exigências e capacidade de enraizamento entre espécies e cultivares tem dificultado o estabelecimento de protocolos gerais e funcionais de enraizamento; por isso é aconselhável agrupar os genótipos semelhantes, com base no padrão de resposta aos diferentes tratamentos (ASSIS; TEIXEIRA, 1998).

Para *Olea europaea* L. a estaquia, mesmo quando estimulada pela aplicação exógena de reguladores vegetais, apresenta variação na resposta de enraizamento, sendo possível encontrar cultivares como ‘Cobrançosa’, as quais atingem, sem dificuldade, porcentagens de formação de raízes adventícias próximas dos 70%, e cultivares como a “Galega vulgar”, a qual não ultrapassar 10% de enraizamento, ou seja, a capacidade de enraizamento da espécie encontra-se muito dependente do genótipo utilizado (PEIXE *et al.*, 2007).

### **2.3.2. Fatores inerentes ao ambiente**

É sabido de longa data que o ambiente afeta diretamente o desenvolvimento das plantas, tanto quanto a potencialidade genética de cada indivíduo. Assim, fatores ambientais como o tipo de solo, relevo, fotoperíodo, temperatura, umidade relativa, altitude, dentre outros, influenciam drasticamente as respostas de indução radicial das plantas (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001).

Mudanças sazonais da temperatura, precipitação e fotoperíodo, são características das mudanças de estações do ano, as quais influenciam no crescimento, florescimento e frutificação, ou seja, as mudanças sazonais influenciam nas características fenológicas de uma espécie que, conseqüentemente, modificam a habilidade de plantas matrizes fornecerem estacas que formem raízes adventícias (DAY; LOVEYS, 1998).

A formação do sistema radicial em estacas está diretamente relacionada com o fotoperíodo, além da intensidade luminosa, fatores principalmente relacionados à fotossíntese, degradação de compostos como as auxinas e relações hídricas (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; HARTMANN *et al.*, 2011). As variações nesses fatores influenciam a síntese de IAA, de cofatores para o enraizamento, na atividade das peroxidases e nas características anatômicas (HARTMANN *et al.*, 2011). Normalmente, a baixa intensidade luminosa resulta em diminuição na taxa de fotossíntese, na biomassa e na produção, podendo ainda afetar o transporte de fotoassimilados e a relação fonte-dreno (SOUZA *et al.*, 1999; NASCIMENTO *et al.*, 2006).

Além disso, as plantas não utilizam a luz somente como fonte de energia para assimilação de carbono inorgânico, mas também como importante sinal ambiental (LIU *et al.*, 2006). Assim, a luz acaba por desempenhar papel fundamental no metabolismo das plantas, afetando significativamente o desenvolvimento e a expressão de diversos genes, (PARKS, 2003). A luminosidade afeta inclusive o metabolismo de vários compostos secundários (HENRIQUES *et al.*, 2004). Desta forma, a intensidade, qualidade e fotoperíodo, estão relacionadas mais às plantas matrizes do que a estaca, sendo de suma importância no fornecimento de energia para a fotossíntese (HARTMANN *et al.*, 2011).

O sucesso do enraizamento de estacas tem sido correlacionado também com a temperatura do ambiente em que as plantas matrizes se encontram, antes da coleta das estacas. (HANSEN, 1990). Embora a resposta do enraizamento seja normalmente relacionada à temperaturas específicas, variações na mesma representam um fator a ser considerado. Por exemplo, o aumento do enraizamento pode não estar relacionado somente com a alta temperatura, e sim pelo aumento sazonal da temperatura, que muitas vezes coincide com o aumento da brotação e com maiores taxas de crescimento (DAY; LOVEYS, 1998; KIBBLER *et al.*, 2004).

O efeito da pluviosidade foi verificado por Kibbler *et al.* (2004) e Bortolini *et al.* (2008), onde a época de coleta das estacas com alto índice pluviométrico apresentou melhor resposta à formação de raízes adventícias, devido ao favorecimento da planta matriz no campo. Todas as mudanças sazonais que ocorrem durante o ano, e que marcam cada estação, justificam a variedade de respostas de enraizamento de diferentes espécies frente às épocas de coleta das estacas.

Na primavera, Santos *et al.* (2011) justificam que o baixo enraizamento de algumas espécies é devido à presença de flores, as quais são formadas por condições ambientais favoráveis. Essa condição de baixo enraizamento em épocas de florescimento também foi verificado por Kibbler *et al.* (2004) e Bortolini *et al.* (2008). No inverno, dias curtos e baixas temperaturas alteram processos fisiológicos das árvores matrizes, o que pode dificultar o enraizamento das estacas obtidas. A porcentagem de enraizamento diminui com a proximidade do inverno, quando os níveis de ácido abscísico (ABA) são normalmente altos. Essa queda na capacidade de enraizamento pode dever-se à variações no conteúdo de cofatores ou à formação e acúmulo de inibidores de enraizamento (NEVES *et al.*, 2006). Nas estações quentes, autores relatam que, as plantas matrizes apresentam alto crescimento vegetativo, com emissão de gemas e folhas jovens, importantes fontes de auxinas endógenas e

demais cofatores, favorecendo assim a indução do enraizamento adventício (KERSTEN *et al.*, 1994; BORTOLONI *et al.*, 2008).

Essas influências ambientais podem agir por meio da sensibilidade ou variação no nível endógeno de auxina nos tecidos. Variações sazonais nos níveis de auxina têm sido correlacionadas com a capacidade de enraizamento, mas o efeito é específico para cada espécie (CARMEN, 1993).

A influência do ambiente de desenvolvimento das plantas matrizes pode ser verificada quando se compara resultados obtidos em diferentes trabalhos de propagação vegetativa que utilizam a mesma espécie e as mesmas condições experimentais. Frequentemente encontram-se resultados divergentes, sendo que essa resposta pode ser decorrente da coleta de material vegetal ter ocorrido em matrizes localizadas em diferentes ambientes (FERREIRA *et al.*, 2001; KNAPIK, *et al.*, 2003; PIMENTA *et al.*, 2005; BORTOLINI, 2006; FERRIANI, 2006; FERREIRA, 2008). Segundo esses autores, O objetivo principal por trabalhos realizados pelos autores foi avaliar a resposta isolada de enraizamento para cada espécie; no entanto, relatam que é de fundamental importância verificar a influencia do ambiente de desenvolvimento, uma vez que interferem sensivelmente nas respostas rizogênicas da propagação vegetativa.

Para Day e Loveys (1998), a habilidade de muitas espécies lenhosas australianas em formar raízes adventícias em estacas está relacionada a condições de crescimento das plantas matrizes. O enraizamento também pode ser uma estratégia ecológica de adaptação de espécies que vegetam em ambientes sujeitos à inundações; as espécies podem apresentar lenticelas hipertrofiadas e aerênquimas no caule raiz e folha, visando compensar o déficit de oxigênio, além de capacidade de brotamento (MELO, 2007).

Segundo Itoh *et al.* (2002), os quais testaram o enraizamento de cem espécies pertencentes à floresta tropical de Sarawak na Malásia, a habilidade de enraizamento é subestimada para a maioria das espécies estudadas devido o fato das estacas terem sido coletadas de árvores pouco vigorosos da floresta e o sucesso do enraizamento ser afetado pela idade e a condição nutricional das plantas matrizes. Os mesmos autores criaram uma hipótese de que a habilidade de enraizamento está possivelmente relacionada à capacidade de espécies se recuperarem de danos físicos, ou seja, espécies apresentam um melhor enraizamento quando localizadas em habitats que sofrem intensamente danos físicos.

## 2.4. CARACTERÍSTICAS DOS AMBIENTES DE ESTUDO

### 2.4.1. Formações vegetais

Os ambientes de estudo utilizados na presente pesquisa estão inseridos no domínio da Floresta Ombrófila Densa (FOD) atlântica, sendo o primeiro apresentando formação vegetal classificada como FOD de Terras Baixas e o segundo classificado como FOD Submontana.

O bioma Mata Atlântica inclui diferentes fitofisionomias, e conforme a Lei Federal 11.428/2006 e Decreto 6.660/2008 abrangia originalmente 1.315.460 km<sup>2</sup> no território brasileiro, seus limites originais contemplavam áreas em 17 Estados, (PI, CE, RN, PE, PB, SE, AL, BA, ES, MG, GO, RJ, MS, SP, PR, SC e RS), o que correspondia a aproximadamente 15% do Brasil (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2011). Atualmente o estado do Paraná tem a porção mais preservada de Floresta Ombrófila Densa atlântica do Brasil, com aproximadamente 500 mil ha que, juntamente com a região sul do estado de São Paulo, representa a maior área contínua de maior expressão desse bioma (RAVAZZANI *et al.*, 1995; RIBEIRO *et al.*, 2009, FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2011).

O termo Floresta Ombrófila Densa substituiu o termo Floresta Pluvial Tropical e foi proposto pelo IBGE (1992), baseado em grande parte no trabalho de Veloso *et al.* (1991) visando uma adaptação da vegetação brasileira a um sistema universal. A ocorrência dessa fitofisionomia está ligada ao clima tropical quente e úmido, sem período seco, com chuvas bem distribuídas durante o ano (acima de 1500 mm por ano) e temperaturas médias variando de 22 e 25° C, sendo caracterizada pela presença de árvores de grande e médio portes, além de lianas e epífitas em abundância, estendendo-se pela costa litorânea desde o nordeste até o extremo sul (IBGE, 2008).

Essa complexa região fitogeográfica apresenta uma ampla variação de altitude e latitude, além de grandes variações climáticas e edáficas (TORRES *et al.* 1997, OLIVEIRA-FILHO; FONTES, 2000; RODERJAN *et al.*, 2002; PRÓ-ATLÂNTICA, 2005). Estas variações promovem uma grande heterogeneidade de habitats, possibilitando uma alta diversidade e riqueza de espécies na comunidade vegetal (MORI *et al.* 1981, JOLY *et al.*, 1999). Segundo a classificação do IBGE (1992) a FOD é subdividida em cinco formações vegetacionais ordenadas segundo hierarquia topográfica, que refletem fisionomias diferentes de acordo com as variações ecotípicas das faixas altimétricas, sendo elas: formação aluvial,

formação das terras baixas, formação submontana, formação montana e formação altomontana (Figura 1)

A FOD das Terras Baixas compreende as formações florestais distribuídas sobre sedimentos quaternários de origem marinha, situadas entre 5 e 30 metros de altitude (VELOSO *et al.*, 1991). Sua fisionomia, estrutura e composição podem variar de acordo com o regime hídrico dos solos, do estágio de desenvolvimento da floresta e do nível de interferência antrópica. Constitui na planície litorânea a principal unidade tipológica, em razão de sua representatividade e diversidade florística elevadas (RODERJAN *et al.*, 2002).

Apresenta alta susceptibilidade a inundações decorrentes da ascensão do lençol freático durante os períodos mais chuvosos, fator que determina uma composição florística e estrutural bastante típica (IBGE, 1992, SEMA, 2002), a qual é composta de dossel não contínuo, entre 20 e 30 metros, onde alguns indivíduos emergentes podem atingir cerca de 40 metros de altura. Abaixo deste dossel, situa-se um estrato arbóreo contínuo, representado pela grande maioria das árvores. Os estratos arbustivo e herbáceo apresentam-se mais ou menos desenvolvidos, as trepadeiras estão bem representadas, sendo que alguns indivíduos podem apresentar diâmetro superior a 10 cm, enquanto as epífitas, apesar de bem representadas, só exibem maior expressão sobre as árvores de grande porte ou nas proximidades dos cursos de água e nos trechos mais úmidos da floresta (VELOSO *et al.*, 1991).

A FOD Submontana, entre as latitudes 24° a 32° S, ocorre entre 30 a 400 metros de altitude, principalmente nas encostas serranas e sobre leque aluviais de origem continental (VELOSO *et al.*, 1991). Apresenta alta diversidade vegetal resultante do regime climático predominantemente chuvoso ao longo de todo o ano e da boa fertilidade de solos, os quais comumente são bem drenados e profundos, geralmente cambissolos ou argissolos. São áreas relativamente estáveis, de declividade moderada, que permitem o estabelecimento de vegetação florestal densa e alta, até 30-35 metros. O interior da floresta é bastante úmido, mal ventilado, rico em epífitas e lianas e existe uma espessa manta de detritos vegetais (serapilheira) sobre o solo (SEMA, 2002).

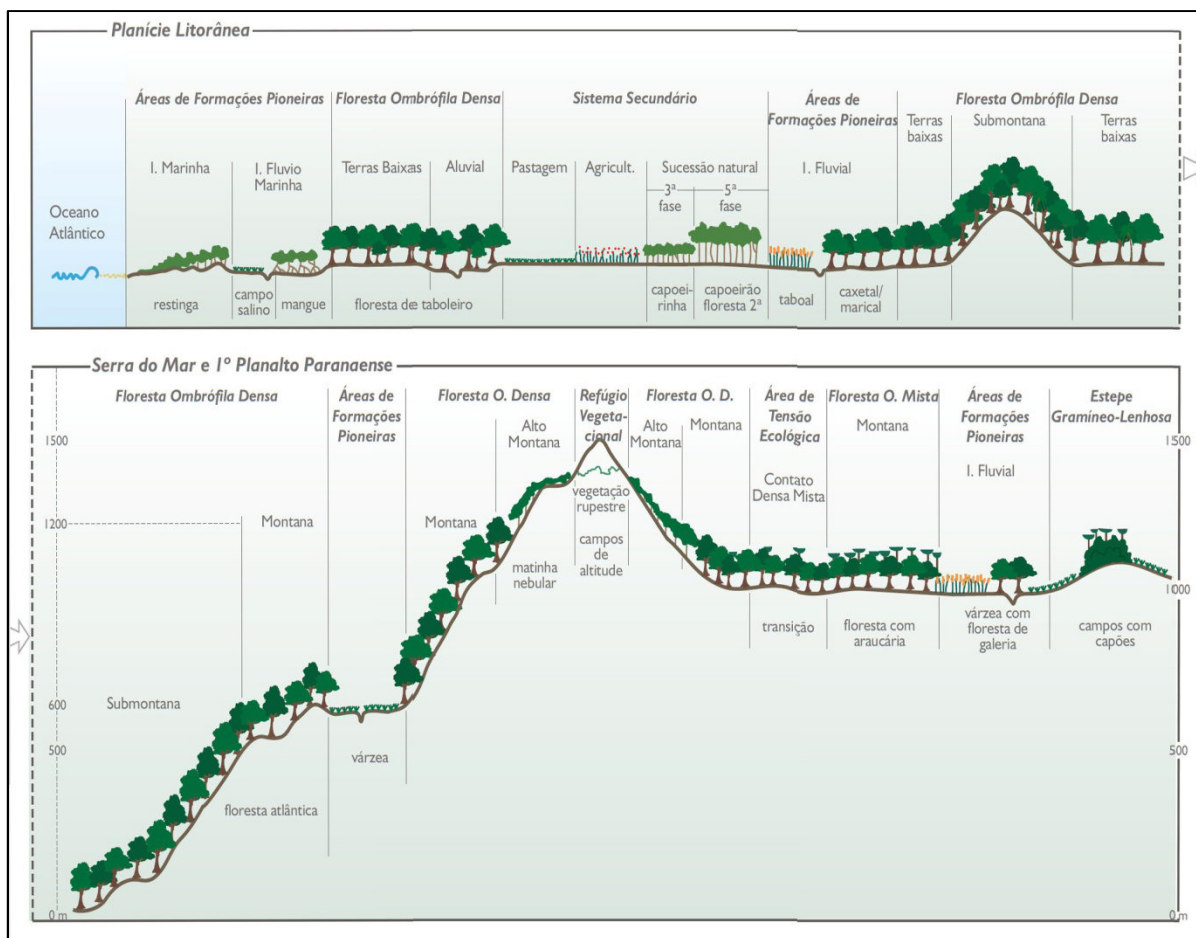


FIGURA 1 - Perfil esquemático dos principais tipos de vegetação - Planície Litorânea, Serra do Mar e Primeiro Planalto paranaense (Leste-Oeste). Fonte: Roderjan, C. V. (SEMA, 2002).

#### 2.4.2. Solo

O litoral paranaense é constituído basicamente de depósitos mistos, continentais e marinhos e por morros isolados, ilhas e cadeias de elevações, formados de migmatitos, gnaisses e xistos modelados pela influência de um clima alternadamente seco e úmido (EMBRAPA, 1984).

Os solos da região são, principalmente, Associação Podzol com A hístico + Podzol com A moderado (Espodossolo), Solos Hidromórficos Gleizados Indiscriminados (Gleissolos) e Solos Indiscriminados de Mangue (Neossolos Flúvicos Sódicos). Nos morros isolados e cadeias de elevações, predominam o Latossolo Vermelho-Amarelo Álico, o Podzólico (Argissolo) Vermelho-Amarelo Álico e o Cambissolo Álico e Distrófico. Nas partes mais íngremes e altas das serras ocorrem os Solos Litólicos (Neossolo litólico) e em locais abaciados, com presença permanente de água, ocorrem os Solos Orgânicos ou Organossolos (EMBRAPA, 1984).

Os solos encontrados na Reserva Natural do Morro da Mina, local onde se localizam as áreas de estudo, pertencem às ordens Neossolo, Cambissolo, Argissolo e Gleissolo (SPVS, 2012). Os ambientes de estudo, além de apresentarem diferentes formações vegetais, são caracterizados por diferentes tipos de solos: a formação FOD Submontana está sobre Cambissolo Háplico Tb distrófico típico, e a FOD das Terras Baixas desenvolve-se em Neossolo Flúvico Tb distrófico gleissólico e Neossolo Flúvico Tb distrófico típico.

Os solos classificados como Cambissolo ocorrem predominantemente em relevo ondulado, forte ondulado e montanhoso. São pouco desenvolvidos, sendo considerados "jovens", por apresentarem minerais primários como feldspatos, micas e horblenda, além de altos teores de silte até mesmo nos horizontes superficiais. Uma das principais características é a pequena profundidade (50-100 cm); além disso, são solos que possuem qualquer tipo de horizonte superficial, exceto hísticos, e apresentam horizonte subsuperficial B incipiente (EMBRAPA, 2006). A ciclagem de nutrientes nas porções mais superficiais do solo desempenha um papel fundamental na manutenção e desenvolvimento da vegetação nesses solos, sendo, portanto, desejável a manutenção e a recomposição da cobertura vegetal das áreas desflorestadas (SPVS, 2012).

De um modo geral, os Cambissolos são bastante suscetíveis à erosão, sendo que as principais limitações ao uso agrícola são a pequena profundidade, baixa fertilidade natural, pedregosidade e ocorrência em relevo muito declivoso. Os Cambissolos compreendem três subordens: Cambissolo Húmico, Cambissolo Flúvico e Cambissolo Háplico (PRADO, 1995; FASOLO *et al.*, 2002).

A subordem classificada como Cambissolo Háplico caracteriza-se por apresentar horizonte B incipiente, entre 20 a 35 cm de espessura, textura variando de muito argilosa a argilosa e de atividade baixa. O desenvolvimento do horizonte B deve-se aos ciclos de umedecimento e secagem. As variações de umidade ao longo dos ciclos de desenvolvimento desses solos acarretam a solubilização do ferro e posterior precipitação, dando origem à formação de concreções ferruginosas, ainda em estágio reversível, que colore as camadas do solo com mosqueados amarelo-avermelhados (SILVA *et al.*, 2003).

Os Neossolos compreendem solos minerais pouco evoluídos, sem horizonte B diagnóstico, sendo as características morfológicas destes solos restritas praticamente às do horizonte A, o qual varia, em média, de 15 a 40 cm de espessura, sendo que a cor, textura, estrutura e consistência dependem do tipo de material que deu origem ao solo. São também bastante heterogêneos no que se refere aos atributos físicos, químicos e mineralógicos (FASOLO *et al.*, 2002; SHINZATO; CARVALHO-FILHO, 2005). São identificadas, em

segundo nível categórico (subordens), as seguintes classes: Neossolo Litólico, Neossolo Flúvico, Neossolo Regolítico e Neossolo Quartzênico (EMBRAPA, 2006).

Os Neossolos Flúvicos (solos Aluviais) compreendem solos não-hidromórficos, formados em terraços de deposição aluvionar recente, ou seja, as planícies aluvionares. Caracterizam-se por apresentar estratificação de camadas, com textura desde arenosa até argilosa, sem relação pedogenética entre si. Portanto, são solos que apresentam grande variabilidade espacial. Possuem seqüência de horizontes A-C, eventualmente com evidências de gleização em subsuperfície, sendo o horizonte A moderado. Uma das características mais marcantes dos Neossolos Flúvicos é a sua variação textural e de carbono em profundidade. São solos profundos, de fertilidade natural média, sendo encontrados em relevo plano e apresentando limitação nula ou apenas ligeira quanto à erodibilidade. A proximidade dos rios e a pequena profundidade do lençol freático que, mesmo em solos bem drenados, raramente está abaixo de 2 m, conferem a esses solos alta susceptibilidade a inundações (SHINZATO; CARVALHO-FILHO, 2005).



### 3. CAPÍTULO I: *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra: ENRAIZAMENTO E NUTRIÇÃO MINERAL DE MATRIZES EM DIFERENTES FENOFASES E AMBIENTES

#### RESUMO

*Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae) é uma espécie nativa da Floresta Ombrófila Densa (FOD), restrita às florestas de baixa altitude, com ocorrência nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, apresentando potencial ornamental, farmacêutico e ecológico. No presente capítulo o objetivo foi verificar o efeito de diferentes ambientes de coleta e do estado nutricional das plantas matrizes no enraizamento e vigor radicial de estacas caulinares de *Psychotria nuda*, coletadas em diferentes fenofases. Nas quatro fenofases estudadas, ou seja, épocas em que as plantas matrizes apresentavam características fenológicas distintas como presença de brotações foliares e estruturas reprodutivas, brotações de copa foram coletadas em Antonina-PR em dois ambientes distintos (planície e encosta) da Floresta Ombrófila Densa. Estacas foram confeccionadas com 10-13 cm de comprimento e duas folhas reduzidas à metade. Após 60 dias em casa de vegetação, foram avaliadas a porcentagem de estacas enraizadas, com calos, vivas, mortas, número de raízes/estaca, comprimento das três maiores raízes/estaca, porcentagem de estacas brotadas, número e comprimento das brotações, porcentagem de estacas com duas folhas originais e porcentagem de estacas enraizadas com formação simultânea de calos. Foram coletadas 100 folhas por matriz, onde foram realizadas as análises químicas para a determinação da concentração, conteúdo e eficiência dos nutrientes N, K, P, Ca, Mg, B, Fe, Cu, Mn e Zn, além da relação C/N. A estaquia de *Psychotria nuda* é viável em qualquer fenofase, sendo que em épocas com menor crescimento vegetativo se faz necessário um período maior que 60 dias no leito de enraizamento. Os melhores resultados para a iniciação e desenvolvimento de raízes adventícias ocorrem nas épocas em que as plantas matrizes apresentam maior quantidade de brotações foliares, chegando a 92% de enraizamento. Os ambientes de desenvolvimento apresentam efeitos sobre o processo de estaquia; no geral, o ambiente encosta promoveu os melhores resultados para as variáveis principais relacionadas ao enraizamento. Em relação aos aspectos nutricionais, apresenta a seguinte sequência decrescente de concentração N>Ca>K>Mg>P para os macronutrientes e Mn>Fe>B>Zn>Cu para os micronutrientes. Os conteúdos dos macronutrientes, com exceção do N, apresentam variações relacionadas ao crescimento vegetativo das matrizes, já os conteúdos dos micronutrientes estão relacionados ao período reprodutivo das matrizes. A nutrição mineral das matrizes de *Psychotria nuda* influencia no processo de estaquia, sendo o comprimento das raízes prejudicado pelos maiores teores de Ca e B. E o comprimento das brotações nas estacas é favorecido pelo N, e dentre os nutrientes que prejudicam o desenvolvimento destaca-se o Ca e a maior relação C/N.

**Palavras-chave:** grandíuva-d'anta; estaquia; fases fenológicas; análise sistêmica; Rubiaceae.

***Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra: ROOTING AND MINERAL NUTRITION  
OF STOCK PLANTS IN DIFFERENT PHENOPHASES AND ENVIRONMENTS**

**ABSTRACT**

*Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae) is a native species from the Dense Ombrophylous Forest (dense tropical rain forest), endemic to the low altitudes forests, occurring in the states of Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul. It has ornamental, ecological and pharmacist potential. The present chapter aimed to verify the effect of different source environments and nutritional status of the stock plants on rooting and force radicial stems cuttings of *Psychotria nuda*, collected at different phenophases. In the four phenophases studied, meaning when the stock plants had different phenological characteristics such as the presence of reproductive structures and leaf buds, canopy shoots were collected in Antonina-PR in two different environments (plain and hillside) of the dense tropical rain forest. After 60 days in greenhouse, the percentage of rooted cuttings, cuttings with callus, living, dead, number of roots per cutting, length of the three largest roots per cutting, sprouting cuttings, number and length of shoots, percentage of cuttings with two original leaves and percentage of simultaneously formation of calluses and rooting were evaluated. Where collected 100 leaves per stock plant, where the chemical analysis were performed for the determination of the concentration, content, and nutrient efficiency of N, K, P, Ca, Mg, B, Fe, Cu, Mn and Zn, and the ratio C/N. Cutting of *Psychotria nuda* is viable in any phenophase, however, during seasons of less vegetative growth it is necessary a period greater than 60 days in rooting beds. The best results for the initiation and development of adventitious roots occur in seasons when the mother plants have a higher amount of leaf shoots, reaching 92% rooting. The development environments have effects on the cutting process, which in general, the hillside environment provides the best results for the main variables related to rooting. Regarding the nutritional aspects, presents the following decreasing sequence of concentration  $N > Ca > K > Mg > P$  for macronutrients and  $Mn > Fe > B > Zn > Cu$  for micronutrients. Macronutrients contents (except N), present variations related to vegetative growth of the stock plants, meanwhile micronutrients contents are related to the reproductive period of the stock plants. The mineral nutrition of *Psychotria nuda* stock plants plays an important role in the process of cuttings, which the root length is hindered by increased levels of Ca and B. And the shoot length in stakes is favored by N, and among the nutrients that harm the development highlights the Ca and C/N higher ratio.

**Key-words:** grandiúva-d'anta; cutting; phenological phases; systemic analysis; Rubiaceae.

### 3.1. INTRODUÇÃO

O gênero *Psychotria* L. possui 2.000 espécies, sendo o maior da tribo Psychotrieae e da família Rubiaceae, além de ser o maior gênero de espécies lenhosas (TAYLOR *et al.*, 2007). *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae), conhecida popularmente como grandíuva ou casca-de-anta, possui importância ornamental (DELPRETE *et al.*, 2005), ecológica (ALMEIDA; ALVES, 2000) e medicinal (FRAGOSO, 2007). É uma espécie nativa de pequeno porte, podendo alcançar até sete metros de altura, sendo encontrada na Floresta Ombrófila Densa da encosta atlântica dos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (DELPRETE *et al.*, 2005; TAYLOR, 2007).

Inicialmente, os estudos sobre a propagação vegetativa via estaquia eram restritos ao paisagismo e à horticultura; progressivamente foram assumindo papel importante na silvicultura (XAVIER *et al.*, 2009). A partir do final da década de 1980, ocorreu um avanço gradual nas pesquisas com o objetivo de desenvolver os métodos de produção de mudas de espécies florestais nativas. No entanto, devido à grande diversidade de espécies e de aspectos técnicos a serem abordados, existem carências de estudos na área.

Quando se utiliza a propagação vegetativa em espécies nativas, a influência dos ambientes de desenvolvimento no processo rizogênico deve ser considerada, visto que uma espécie pode ocorrer em diferentes locais com características específicas. Como exemplo tem-se a Floresta Ombrófila Densa atlântica, a qual apresenta uma ampla variação de altitude e latitude, além de grandes variações climáticas e edáficas (OLIVEIRA-FILHO; FONTES, 2000; RODERJAN *et al.*, 2002; PRÓ-ATLÂNTICA, 2005). Estas variações promovem uma grande heterogeneidade de habitats (JOLY *et al.*, 1999), sendo a *Psychotria nuda* presente em grande parte deles (ALMEIDA, 2005; TAYLOR, 2007).

Sabe-se que o ambiente afeta diretamente o desenvolvimento das plantas, tanto quanto a potencialidade genética de cada indivíduo. Assim, fatores ambientais como o tipo de solo, relevo, fotoperíodo, temperatura, umidade relativa e altitude, influenciam drasticamente a formação do sistema radicial em estacas (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001).

Relatos bibliográficos sobre a propagação assexuada de *Psychotria nuda* são raros na literatura. Entretanto pode-se verificar que esta espécie responde ao enraizamento, com e sem a aplicação de ácido indol butírico (IBA) exógeno, em diferentes porcentagens (ZUFFELLATO-RIBAS; WITT, 2009; NERY, 2010); todavia, variações nos resultados de enraizamento em uma mesma época foram observadas. Esta resposta pode ter ocorrido devido

à coleta de material vegetal ser realizada em matrizes localizadas em diferentes ambientes. Essa divergência na formação de raízes adventícias também foi verificada para outras espécies nativas (FERREIRA *et al.*, 2001; KNAPIK, *et al.*, 2003; PIMENTA *et al.*, 2005; BORTOLINI, 2006; FERREIRA, 2008). Adicionalmente, a influência dos ambientes de desenvolvimento das plantas matrizes pode variar em diferentes épocas de coleta, modificando assim a condição fisiológica das plantas matrizes, tais como conteúdo de água, teor de reservas e nutrientes e balanço hormonal, e consequentemente, a formação de raízes adventícias (HARTMANN *et al.*, 2011).

Além dos ambientes de desenvolvimento das plantas matrizes, outros fatores influenciam a formação de raízes adventícias, dentre os quais, a condição fisiológica da planta matriz (presença de carboidratos, substâncias secundárias nitrogenadas, aminoácidos, balanço hormonal, compostos fenólicos, estado nutricional), o genótipo, a posição das estacas nos ramos, a presença de folhas e gemas e a idade do ramo (FOCHESATO *et al.*, 2006; PIO *et al.*, 2006; GARBUIO *et al.*, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2008; BASTOS *et al.*, 2009; HARTMANN *et al.*, 2011). De modo geral, o conhecimento da interação entre esses fatores permite melhor explicar as causas do enraizamento, ou seja, quanto mais difícil o enraizamento de uma espécie, maior será a importância dos fatores envolvidos (FACHINELLO *et al.*, 2005).

Dentre os fatores que modificam a condição fisiológica da planta matriz, pode-se destacar a nutrição mineral. O estado nutricional da planta matriz, que fornece o material vegetal para o enraizamento, é fator determinante do sucesso da propagação vegetativa, pois determinará a quantidade de carboidratos, auxinas, e outros compostos metabólicos, fundamentais à indução e desenvolvimento das raízes adventícias (MALAVASI, 1994; HIGASHI *et al.*, 2004). Portanto, o fator nutricional tem influência direta na formação do sistema radicial, uma vez que nutrientes estão envolvidos nos mais diversos processos bioquímicos (MALAVASI, 1994; CUNHA *et al.* 2009a).

Diante do exposto, o objetivo do presente capítulo foi estudar o efeito de diferentes ambientes de coleta e do estado nutricional das plantas matrizes no enraizamento de estacas caulinares de *Psychotria nuda* coletadas em diferentes fenofases, além de verificar a influência da formação de calos, das brotações e a permanência de folhas originais na formação e desenvolvimento das raízes adventícias.

## 3.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.2.1. Caracterização da área de estudo

A coleta do material vegetal de *Psychotria nuda*, foi realizada na Reserva Natural do Morro da Mina, localizada no litoral paranaense próximo às coordenadas UTM 7189000 N e 72300 E (DATUM SAD 69), município de Antonina-PR. A Reserva pertence à Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental - SPVS, abrangendo 3.426 ha. A área apresenta trechos da encosta da Serra do Mar e da planície litorânea, chegando até a baía de Antonina (SPVS, 2010) (Anexo 1).

A Reserva do Morro da Mina está inserida no domínio da Floresta Ombrófila Densa (FOD) atlântica, sendo que para a realização do presente estudo foram escolhidos dois ambientes característicos dessa vegetação:

- 1) Floresta Ombrófila Densa Submontana
- 2) Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas

Em cada ambiente foi escolhida uma área que apresentasse vegetação nativa com pouca interferência antrópica, sendo trechos conservados da FOD, visando um ambiente o mais natural possível de desenvolvimento das matrizes de *Psychotria nuda*.

A área escolhida no ambiente de Floresta Ombrófila Densa Submontana está localizada em um trecho de encosta, apresentando terreno inclinado e solo classificado como Cambissolo Háplico Tb distrófico típico (Anexo 2 - A). A área escolhida no ambiente de Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas está localizada na planície litorânea, apresenta relevo plano e solo classificado como associação Neossolo Flúvico Tb distrófico gleissolico + Neossolo Flúvico Tb distrófico típico (Anexo 2 - B). Para auxiliar a leitura deste capítulo foi definido um termo para cada ambiente: Encosta: ambiente de Floresta Ombrófila Densa Submontana; e Planície: Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas.

Um levantamento de solos da Reserva do Morro da Mina foi realizado em 2002 pela SPVS, do qual foram escolhidas análises de solos com mesmo nome dos solos das atuais áreas de estudo, visando um melhor entendimento sobre as características dos solos citados acima. A Tabela 1.1 apresenta os resultados médios, onde se obteve os valores para P, K, Ca, Mg por resina trocadora de íons, Na por extração com ácido clorídrico 0,05 N, Al por extração com cloreto de potássio 1 N, H + Al com acetato de Ca e C pelo método de Walkley-Black. Com os dados obtidos foram calculados a soma de bases, capacidade de troca de cátions total e efetiva, saturação por bases e saturação de alumínio (SPVS; TNC, 2002).

Tabela 1.1 - Resultados médios da análise química de solos com classificação equivalente aos solos das áreas de estudo e localizados na Reserva do Morro da Mina. (Fonte: SPVS, 2002).

Solo	Profundidade cm	P assimilável mg/kg	K <sup>+</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	Na <sup>+</sup>	Al <sup>+3</sup>	H <sup>+</sup>	C orgânico g/kg
			cmol <sub>c</sub> /kg						
Rudb1+ Rudb2	0-20	2,3	0,21	1,65	1,85	0,08	1,25	9,1	32,8
	40-60	1,6	0,14	0,73	0,80	0,06	0,60	3,3	5,7
Cxbd3	0-20	1,7	0,25	3,20	1,70	0,08	1,60	10,9	36,8
	40-60	1,0	0,09	1,40	0,73	0,03	0,90	4,7	10,1

Solo	Profundidade cm	Soma de bases	CTC total	CTC efetiva	Saturação por bases	Saturação de alumínio
		cmol <sub>c</sub> /kg			%	
Rudb1+ Rudb2	0-20	3,8	14,2	5,0	26,7	25,0
	40-60	1,7	5,6	2,3	30,4	26,0
Cxbd3	0-20	5,2	17,7	6,8	29,4	23,5
	40-60	2,3	7,9	3,2	29,1	28,1

Legenda: Rudb1+ Rudb2: Neossolo Flúvico Tb distrófico gleissólico + Neossolo Flúvico Tb distrófico típico, Cxbd3: Cambissolo Háplico Tb distrófico típico.

Na Planície verificou-se, visualmente, que nos períodos de alta pluviosidade ocorrem inundações da área. O clima da região, pelo sistema internacional de Köppen, é do tipo Cfa (Clima Subtropical Úmido - Mesotérmico), com média do mês mais quente superior 22°C e do mês mais frio inferior a 18°C, sem estação seca definida, verão quente e geadas pouco frequentes (IPARDES, 2001; VANHONI; MENDONÇA, 2008). O período mais quente é representado pelos meses de dezembro, janeiro e fevereiro, este último o mais quente entre os três. O período de menores temperaturas é representado pelos meses de junho, julho e agosto, sendo julho o mais frio. O ciclo anual da distribuição das chuvas no litoral paranaense está intimamente ligado às estações do ano, sendo que no verão a média é maior, diminuindo no outono, chegando às menores médias no inverno e progressivamente aumentando na primavera (VANHONI; MENDONÇA, 2008).

Durante o período de estudo os meses mais quentes foram dezembro, janeiro e fevereiro, sendo a temperatura média do mês mais quente (fevereiro) de 25,8°C. Já os períodos de menor temperatura foram representados pelos meses de junho, julho e agosto, onde a menor temperatura média ocorreu no mês de agosto com 16,2°C. Com relação à pluviosidade o maior índice foi obtido em janeiro (692,8mm), e o menor em agosto (112,6mm) (Anexo 3).

No período de estudo, os volumes de chuva foram superiores à média esperada para a região na maioria dos meses, sendo o verão a estação do ano que apresentou maior aumento de pluviosidade comparado às médias mensais históricas. Com relação às temperaturas, observou-se que nas épocas mais quentes, ou seja, verão e primavera, a temperatura média foi superior esperadas. As médias das máximas e mínimas também se mantiveram superiores durante o período de estudo. Já durante as épocas mais frias, as médias mantiveram-se dentro ou até um pouco abaixo das médias esperadas. A umidade relativa do ar manteve-se superior durante todo o período de estudo comparada as médias históricas para a região (Anexos 3, 4 e 5). O Anexo 3 mostra as variações de precipitação, umidade relativa, radiação solar e temperatura no período de condução dos experimentos (outubro/2009 a setembro/ 2010). Já as variações de fotoperíodo são apresentadas no Anexo 6.

### **3.2.2. Caracterização das plantas matrizes**

Em cada ambiente de estudo foram selecionadas 80 plantas matrizes de *Psychotria nuda* (Anexo 7 - A, B, C, D, E, F) com crescimento o mais ereto possível e distantes umas das outras por no mínimo 0,5 m, uma vez que existem evidências de reprodução vegetativa no gênero (GRANDISOLI, 1997) e para a espécie (CORREA, 2011), evitando assim, a escolha de matrizes provenientes desse tipo de propagação. Posteriormente, foram medidas a altura e a circunferência à altura do peito (a 1,30 m do solo), visando escolher matrizes o mais semelhantes possível. O diâmetro calculado apresentou média de 6,29 cm com desvio padrão de 1,11 cm e à altura média foi de 4,81 m com desvio padrão de 0,60 m. A localização de cada matriz nas áreas de estudo foi realizada por meio de sua marcação e numeração, além de confecção de croquis de localização, visando sua futura identificação no campo.

Para a realização dos experimentos de estaquia e para o perfil nutricional foram estabelecidos quatro fenofases da espécie. Sendo assim, em cada ambiente de estudo as 80 matrizes foram separadas em quatro grupos de 20 árvores, as quais foram fonte de material vegetal em cada fenofase. A descrição resumida do comportamento fenológico da espécie e sua época de ocorrência estão descritos na Tabela 1.2, e as características dos ramos em cada fenofase estão ilustradas no Anexo 8- A, B, C, D. Para cada fenofase foi designado um número de referência com o objetivo de sua identificação futura.

A espécie apresenta mudanças em seu comportamento fenológico seguindo as mudanças climáticas em cada estação do ano; sendo assim, as coletas para os experimentos de estaquia e para a quantificação nutricional coincidiram aproximadamente com o final de cada

estação do ano. A definição do comportamento fenológico se baseou na observação e quantificação da presença de brotações foliares e florais, flores, frutos verdes e frutos maduros nas matrizes utilizadas no estudo (Anexo 9).

TABELA 1.2: Comportamento fenológico de *Psychotria nuda* nas épocas de coleta do material vegetal. Antonina-PR, 2009-2010.

Época	Descrição fenológica	Fenofase
Novembro/2009 (final da primavera)	Matrizes em pleno vigor vegetativo, com presença de brotações foliares, frutos verdes e maduros e brotações florais.	1
Março/2010 (final do verão)	Matrizes com menor quantidade de brotações foliares, com presença de frutos verdes e maduros, brotações florais e flores em antese.	2
Junho/2010 (final do outono)	Matrizes com redução de atividade vegetativa, ausência de brotações foliares e florais, com presença de frutos verdes e maduros e flores em antese.	3
Setembro/2010 (final do inverno)	Matrizes iniciando a atividade vegetativa, com presença somente de brotações foliares jovens e frutos verdes.	4

Para a documentação científica da espécie, foram coletados ramos em estado fértil, com flores e frutos, os quais foram herborizados e registrados no Herbário Fernando Cardoso da Silva, pertencente ao Laboratório de Ecologia Aplicada da Embrapa Florestas (Colombo-PR), sob o nº HFC 8875.

### 3.2.3. Coleta do material vegetal

Para a estaquia foram utilizados ramos formados na última fase de crescimento (brotações do ano) de matrizes adultas de *Psychotria nuda* coletados nas quatro fenofases, onde foram utilizadas 20 matrizes por ambiente de estudo como fonte do material vegetal em cada fenofase. A primeira coleta, referente à fenofase 1, foi realizada em um dia; entretanto, pode-se verificar que, devido às temperaturas elevadas do local, a coleta somente em um dia não foi favorável, uma vez que foram necessários muitos cuidados para evitar a perda excessiva de água do material. Sendo assim, as demais coletas foram realizadas em dois dias, sempre no período da manhã, sendo o primeiro dia destinado para a coleta na planície e o segundo dia para a encosta, sendo o período da tarde destinado à estaquia.

Após a coleta, os ramos de cada matriz foram armazenados em sacos plásticos identificados com o número da matriz e o ambiente de coleta, e encaminhadas para o



Laboratório de Macropropagação do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba-PR, para a instalação da estaquia (Anexo 10).

Para as análises nutricionais foram utilizadas folhas dos ramos formados na última fase de crescimento, coletados antes da instalação dos experimentos de estaquia, visando identificar o estado nutricional das matrizes em cada fenofase e em cada ambiente. Para amostragem dos tecidos foliares foram coletadas 25 folhas de ramos localizados no terço médio das plantas matrizes nos quatro pontos cardeais de sua copa, somando assim 100 folhas por matriz. Após coletadas, as folhas foram armazenadas em embalagens plásticas e mantidas em caixa de isopor, sendo transportadas para o Laboratório de Ecologia Aplicada da Embrapa Florestas (Colombo-PR), onde foram lavadas com água destilada, acondicionadas em sacos de papel e mantidas em estufa com ventilação forçada para secagem a  $60 \pm 5$  °C por dois dias (Anexo 11).

#### **3.2.4. Confeção e tratamento das estacas**

A partir dos ramos coletados foram confeccionadas estacas caulinares de 10 a 13 cm de comprimento, com corte em bisel na base e corte reto na porção superior, e mantidas duas folhas na porção apical das estacas, com sua área reduzida à metade, objetivando a redução da perda de água pela transpiração foliar. A confecção das estacas foi realizada desprezando as porções apicais herbáceas dos ramos, quando estas se faziam presentes.

Em seguida, as estacas receberam tratamento fitossanitário permanecendo submersas em hipoclorito de sódio a 0,5% por 10 minutos (ação bactericida), sendo, em seguida lavadas em água corrente por 5 minutos. Posteriormente foram plantadas em tubetes de polipropileno, contendo vermiculita de granulometria média e casca de arroz carbonizada como substrato, numa proporção de 1:1(v/v), e mantidas em casa de vegetação por 60 dias, com umidade e temperatura controlada ( $\pm 90\%$  UR,  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ), até a época de avaliação.

#### **3.2.5. Variáveis analisadas**

As avaliações nutricionais foram realizadas no início do experimento da estaquia, em cada época de coleta e as avaliações biométricas foram realizadas 60 dias após a instalação da estaquia. O tempo de permanência no leito de enraizamento de 60 dias foi definido segundo Nery (2010).

### **3.2.5.1. Variáveis biométricas**

As seguintes variáveis biométricas foram avaliadas:

- Porcentagem de enraizamento (estacas vivas que apresentaram raízes de no mínimo 2 mm de comprimento, podendo ou não apresentar calos);
- Porcentagem de estacas com calos (estacas vivas, sem raízes, com formação de massa celular indiferenciada na base);
- Número total de raízes por estaca;
- Comprimento das três maiores raízes por estaca (cm);
- Porcentagem de sobrevivência (estacas vivas que não apresentaram indução radicial nem formação de calos);
- Porcentagem de mortalidade (estacas que se encontravam com tecidos necrosados);
- Porcentagem de estacas brotadas (estacas vivas, com ou sem formação de raízes e calos, que apresentavam brotações de folhas novas);
- Número total de brotações formadas por estaca;
- Comprimento das três maiores brotações por estaca (cm);
- Porcentagem de estacas com permanência de duas folhas originais (estacas vivas, com ou sem formação de raízes e calos, que mantiveram as duas meias folhas mantidas no momento da instalação da estaquia);
- Porcentagem de estacas enraizadas e com formação de calos (estacas que apresentavam simultaneamente raízes e calos).

### **3.2.5.2. Variáveis nutricionais**

As variáveis nutricionais consistiram em:

- Massa seca de 100 folhas;
- Concentração e conteúdo dos macronutrientes nitrogênio (N), potássio (K), fósforo (P), cálcio (Ca) e magnésio (Mg);
- Concentração e conteúdo dos micronutrientes boro (B), zinco (Zn), ferro (F), cobre (Cu) e manganês (Mn);
- Relação carbono/nitrogênio (C/N);
- Eficiência nutricional.

Todas as variáveis nutricionais foram determinadas para cada matriz, ou seja, cada amostra analisada foi obtida de uma matriz específica, somando um total de 160 amostras.

A relação C/N foi calculada pela divisão da concentração de carbono pela concentração de nitrogênio. O conteúdo foliar dos nutrientes foi obtido considerando as concentrações dos nutrientes e a massa seca de 100 folhas de cada matriz. Os resultados obtidos foram expressos em g/massa seca de 100 folhas para os macronutrientes e mg/massa seca de 100 folhas.

A eficiência de utilização ou de conversão do nutriente foi obtida por meio da massa seca de 100 folhas de cada matriz, dividido pelo conteúdo de cada nutriente, adaptada de:

A eficiência de utilização é definida como quantidade de matéria seca em kg de uma determinada espécie produzida por kg de nutriente utilizado (SIDDQUI; GALSS, 1981). Uma espécie ou matriz eficiente é aquela capaz de elaborar o máximo de biomassa por nutriente absorvido. Assim, a eficiência de utilização ou conversão foi obtida pela divisão dos dados de massa seca de 100 folhas, de cada matriz, pelos dados de conteúdo do nutriente em 100 folhas, adaptada por Swiader *et al.* (1994), simulando assim o conteúdo necessário do nutriente para produzir o peso equivalente de 100 folhas; entretanto o quanto deste montante seria bioativo fisiologicamente e diretamente responsável pela produção da biomassa, continua sendo uma incógnita.

$$\text{Conteúdo em 100 folhas (g)} = \frac{\text{Concentração (g/kg)} \times \text{Massa seca de 100 folhas (g)}}{1000}$$

$$\text{Eficiência Nutricional} = \frac{\text{Massa seca de 100 folhas (g)}}{\text{Conteúdo do nutriente de 100 folhas (g)}}$$

Todas as análises químicas foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola - UFPR, a partir da metodologia sugerida por Martins e Reissmann (2007), exceto o boro, que seguiu a metodologia de Bataglia *et al.* (1983).

Após a secagem, as folhas foram pesadas e moídas, utilizando moedor do tipo Willey e peneirado (Mesh 14), visando sua armazenagem até a realização das análises nutricionais (Anexo 11). Posteriormente o tecido vegetal foi digerido via seca e solubilizado com HCl 3 mol L<sup>-1</sup> para as determinações de P, K, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu e Mn (Anexo 12). Para

determinação de Ca, Mg, Zn, Fe e Mn utilizou-se espectrofotometria de absorção atômica em espectrofotômetro VARIAN modelo AA-240FS. Para a determinação de K foi utilizado fotômetro de chama CELM modelo FC-180, e P determinado por colorimetria em espectrofotômetro UV/VIS Shimadzu modelo 1240-Mini. Os nutrientes N e C foram determinados por combustão seca utilizando o equipamento Vario EL III da Elementar Analysensysteme (Anexo 13). Para B, o tecido vegetal foi digerido via seca e solubilizado com HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> (Anexo 12), e sua determinação realizada por colorimetria em espectrofotômetro UV/VIS Shimadzu modelo 1240-Mini.

### **3.2.6. Análise dos dados**

#### **3.2.6.1. Teste de comparação de médias**

Os dados das análises biométricas e nutricionais foram organizados em um delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial 4 x 2, onde os fatores testados foram fator A = fenosafes e fator B = tipos de ambiente de estudo. Os níveis definidos para o fator A foram: A<sub>1</sub> = fenofase 1 (primavera); A<sub>2</sub> = fenofase 2 (verão); A<sub>3</sub> = fenofase 3 (outono) e fenofase 4 (inverno), e os níveis para o fator B como sendo : B<sub>1</sub> = encosta (ambiente 1) e B<sub>2</sub> = planície (ambiente 2). Assim, foram testados 8 tratamentos, sendo que para estaquia os tratamentos eram compostos de 20 repetições por tratamento, com 20 estacas por unidade experimental, sendo cada repetição composta de estacas confeccionadas de uma planta matriz, totalizando 3200 estaca. Para as análises nutricionais os tratamentos apresentavam 20 repetições com uma amostra por unidade experimental, somando 160 amostras de tecido foliar.

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. As variáveis cujas variâncias se mostraram homogêneas tiveram suas médias submetidas à análise de variância, visando testar as hipóteses H<sub>0</sub>: as condições testadas não possuem influência na propagação vegetativa via estaquia e na nutrição mineral de *Psychotria nuda* e H<sub>1</sub>: pelo menos um dos tratamentos apresenta influência. As variáveis que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram processados pelo programa MSTAT, versão 2.11 (Michigan State University, 1989).

### 3.2.6.2. Correlações de Pearson

Visando verificar a possível influência da nutrição mineral na formação das raízes adventícias, foi realizada análise da matriz de correlação de Pearson entre as variáveis biométricas (porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes formadas por estaca, comprimento das três maiores raízes formadas (cm), porcentagem de estacas com brotações, número de brotações formadas por estaca, comprimento das três maiores brotações por estaca (cm), porcentagem de estacas com manutenção de duas folhas originais) e as variáveis nutricionais (concentração de macro e micronutrientes e relação C/N).

Tanto as correlações entre as variáveis biométricas e as variáveis nutricionais, como as correlações somente entre as variáveis biométricas foram realizadas em cada condição testada, ou seja, dois ambientes de coleta e quatro fenofases. Para o segundo caso, os resultados, quando necessário, foram apresentados juntamente com a comparação de médias, visando melhor compreensão dos mesmos. Os coeficientes de correlação obtidos foram avaliados pela estatística F, a nível de 5% e 1% de significância.

### **3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nesse tópico os resultados e discussão, para as variáveis biométricas, são apresentados obedecendo a sequência de porcentagem de enraizamento e de estacas com calos, número e comprimento médio das raízes formadas, porcentagem de sobrevivência e mortalidade, porcentagem de estacas brotadas, número e comprimento das brotações formadas, porcentagem de estacas com folhas originais e porcentagem de estacas enraizadas com formação de calos. Os resultados das correlações entre as variáveis biométricas foram incluídos nos itens referentes às variáveis relacionadas.

Para as variáveis nutricionais, a organização dos resultados e sua discussão seguem a sequência: massa seca de 100 folhas, concentração de macronutrientes, concentração de micronutrientes, conteúdo de macronutrientes, conteúdo de micronutrientes, concentração e conteúdo de carbono e relação carbono/nitrogênio, eficiência de conversão de macronutrientes e eficiência de conversão de micronutrientes. Os resultados das correlações entre as concentrações de macro e micronutrientes estão nos anexos e sua discussão nos tópicos referentes a concentração.

#### **3.3.1. Variáveis biométricas**

##### **3.3.1.1. Porcentagem de enraizamento e de estacas com calos**

A análise de variância (Tabela 1.3) revelou que para as variáveis porcentagem de enraizamento e de estacas com calos, a interação entre os fatores ambientes de coleta e fenofases foi estatisticamente significativa, indicando que estes fatores não são independentes.

A interação obtida evidencia a importância dos ambientes no estudo no enraizamento de estacas. Comparando estudos sobre rizogênese adventícia em plantas nativas, verificam-se diferenças de enraizamento dentro de uma mesma espécie, sendo que essa resposta pode estar relacionada à coleta de material vegetal ter ocorrido em matrizes localizadas em ambientes distintos (FERREIRA *et al.*, 2001; KNAPIK *et al.*, 2003; PIMENTA *et al.*, 2005; BORTOLINI, 2006; FERREIRA, 2008).

TABELA 1.3 - Análise de variância (teste F) para porcentagens de estacas enraizadas e com calos de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	
		Enraizadas	Calos
Fenofases (A)	3	14777,656**	10422,292**
Ambientes (B)	1	1410,156**	1322,500**
Interação AxB	3	2413,073**	424,167**
Erro	152	92,870	62,911
Total	159		
Coeficiente de variação (%)		12,92	50,56
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		3,212 <sup>ns</sup>	13,968 <sup>ns</sup>

\*\*= significativo a 1%; <sup>ns</sup>= não significativo a 5%

Na comparação das fenofases para cada ambiente o teste de comparação de médias (Tabela 1.4) indicou que na encosta as fenofases 1, 2 e 4 são iguais entre si e estatisticamente diferentes da fenofase 3. Na planície, a fenofase 2 foi estatisticamente diferente e superior às demais fenofases estudadas.

Quando considerados os ambientes dentro de cada fenofase, o teste revelou que para as fenofases 1 e 4 a encosta foi superior e estatisticamente diferente da planície. Para a fenofase 3 a planície foi estatisticamente superior a encosta, enquanto que para a fenofase 2 não foi verificada diferença entre os ambientes.

Nos dois ambientes de desenvolvimento das plantas matrizes de *Psychotria nuda*, dentre todas as fenofases analisadas, o menor valor para porcentagem de estacas enraizadas ocorreu na fenofase 3, onde a encosta apresentou 41% e na planície 52,8%, ambas diferindo estatisticamente (Tabela 1.4). As matrizes, nessa fenofase, encontravam-se com redução da atividade vegetativa além da ausência de folhas e flores jovens (Anexos 8 e 9), as quais são fonte de auxina e cofatores do enraizamento (BENINCASA; LEITE, 2004; TAIZ e ZEIGER, 2010). Sendo assim, a ausência de órgãos juvenis e possível redução da concentração interna de auxina podem ter diminuído o potencial de enraizamento da espécie na fenofase 3.

Considerando os valores mais baixos de enraizamento (41 e 52,8%), *Psychotria nuda* pode ser considerada de fácil enraizamento (Anexo 14 - C, D, E, F), uma vez que esses valores são considerados altos quando se trata da propagação vegetativa de espécies nativas, principalmente com a utilização de ramos de brotação do ano, sem nenhum tratamento para induzir a juvenilidade, e sem tratamentos com reguladores vegetais. Zuffellato-Ribas e Witt (2009) e Nery (2010), estudando o efeito de diferentes concentrações de auxinas no enraizamento de *Psychotria nuda*, concluíram que a espécie apresenta propagação vegetativa viável, mesmo sem a utilização de reguladores vegetais.

TABELA 1.4 - Porcentagens de estacas enraizadas de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	90,0 A a	67,5 B b	78,8
2	90,3 A a	92,0 A a	91,1
3	41,0 B b	52,8 A c	46,9
4	89,0 A a	74,3 B b	81,6
Médias	77,6	71,6	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Para a formação de raízes adventícias na encosta ocorreu na fenofase 2, apresentando 90,3% de estacas enraizadas, a qual não diferiu estatisticamente das fenofases 1 e 4. Já na planície a fenofase 2 foi estatisticamente superior a todas as demais condições, apresentando 92% de enraizamento (Tabela 1.4). Diferenças sazonais no enraizamento estão relacionadas, segundo Kachecheba (1976), ao conteúdo de auxinas nas estacas, o qual é maior durante o crescimento vegetativo da planta matriz. Segundo Hartmann *et al.* (2011) estacas coletadas na primavera e no verão tendem a ter maior facilidade de enraizamento, sendo essa resposta também justificada em função da atividade vegetativa nessa época. Nery (2010) também relacionou os melhores resultados de enraizamento de estacas de *Psychotria nuda* com épocas de maior crescimento vegetativo.

Considerando o exposto e analisando os ambientes de coleta, pode-se verificar que a influência do ambiente se dá em épocas de baixa atividade vegetativa, ou seja, nas fenofases 3 e 4, resultado que pode ser justificado pela possível redução endógena de substâncias que promovem o enraizamento, como auxinas e cofatores. FACHINELLO *et al.* (2005) relatam que quanto mais difícil o enraizamento de uma espécie, maior será a importância dos fatores envolvidos. Entretanto, essa afirmação pode ser aplicada em uma mesma espécie que apresenta em certas épocas maior dificuldade de enraizamento.

Comparando os resultados de enraizamento com o comportamento fenológico da espécie nos dois ambientes, verifica-se que a formação de raízes está relacionada com a presença de brotações foliares, sendo os melhores resultados encontrados nas fenofases em que as matrizes se encontram em alguma fase de crescimento vegetativo. Nesse contexto, foi realizada uma correlação simples, entre a porcentagem de enraizamento e a porcentagem de matrizes que apresentavam brotações foliares (Anexo 9), visando comprovar essa relação e auxiliar no entendimento do processo de formação de raízes.



Na Tabela 1.5 pode-se observar alta correlação positiva e significativa no ambiente encosta, entre o enraizamento e a porcentagem de matrizes que apresentam brotações foliares (Anexo 9). Na correlação geral, ou seja, desconsiderando os ambientes, também foi positiva e significativa, indicando assim a importância das brotações foliares no processo de enraizamento da espécie. Com a alta atividade fisiológica dos ramos, os quais apresentam folhas jovens e gemas, possivelmente a quantidade de auxina endógena foi suficiente para induzir a formação de raízes adventícias em estacas da espécie.

TABELA 1.5 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre a porcentagem de matrizes com presença de brotações foliares e com flores e a porcentagem de enraizamento de estacas, para *Psychotria nuda*.

<b>Ambientes (n=4)</b>	<b>Matrizes com brotações foliares (%) x Enraizamento (%)</b>
Encosta	0,965*
Planície	0,577 <sup>ns</sup>
Geral (n=8)	0,794*
<b>Ambientes (n=4)</b>	<b>Matrizes com flores (%) x Enraizamento (%)</b>
Encosta	0,051 <sup>ns</sup>
Planície	0,378 <sup>ns</sup>
Geral (n=8)	0,163 <sup>ns</sup>

\* = significativo a 5%, <sup>ns</sup> = não significativo a 5%

Conforme comportamento fenológico e suas mudanças durante os anos 2009/2010 (Anexo 9), verificou-se que o crescimento vegetativo da espécie, na área de estudo iniciou no fim do inverno, ou seja, final de setembro, coincidindo com o aumento do fotoperíodo, temperatura e pluviosidade (Anexos 5 e 6). Nessa época, as brotações foliares possuíam dimensões reduzidas e estavam presentes na maioria das matrizes estudadas. O desenvolvimento das brotações se estendeu pela primavera, e na metade da estação (novembro) todas as matrizes apresentavam novas brotações, além do desenvolvimento de brotações florais. O crescimento vegetativo e floral continuou no verão, sendo que ao final da estação (março) ainda apresentou emissão de brotações foliares e florais. Entretanto, pode-se perceber que o crescimento vegetativo nessa época apresentava diminuição de sua atividade, a qual aconteceu juntamente com a redução de fotoperíodo, temperatura e pluviosidade na região. O comportamento fenológico descrito é confirmado por Almeida e Alves (2000), os quais relatam que o período de crescimento (emissão foliar) de *Psychotria nuda* é coincide com a estação úmida e com os meses mais quentes e de maior fotoperíodo.

Trabalhos realizados com *Coffea canephora*, *Tibouchina sellowiana* e *Psychotria nuda* relatam a relação entre o alto índice pluviométrico e o incremento no enraizamento (PURUSHOTHAM *et al.* 1984; BORTOLINI *et al.*, 2008; NERY, 2010), resposta que,

possivelmente, está relacionada com o crescimento vegetativo dessas espécies, relação que foi observada no presente estudo.

A presença de flores maduras na espécie foi observada nas fenofases 2 e 3 (Anexo 9). O fato das matrizes estarem florescendo não apresentou influência na porcentagem de enraizamento pois, independente dos ambientes de coleta, a fenofase 2 apresentou as melhores condições para a formação de raízes adventícias, enquanto na fenofase 3 observa-se as porcentagens mais baixas para essa variável (Tabela 1.4). Sendo assim, o enraizamento de estacas da espécie em estudo não é influenciado pelo período de florescimento. Esse fato foi comprovado pela baixa correlação linear entre a porcentagem de enraizamento e a porcentagem de matrizes com flores (Tabela 1.4). Em algumas espécies nativas, a presença de flores interfere no enraizamento. Santos *et al.* (2011) constataram que os menores percentuais de enraizamento para *Cestrum laevigatum* (Schlecht.) foram obtidos na primavera, época em que as matrizes encontravam-se em florescimento. Essa relação também foi verificada por Kibbler *et al.* (2004), para *Backhousia citriodora* F. Muell. e por Bortolini *et al.* (2008) para *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.

Considerando o quadro geral de enraizamento nas quatro fenofases, verificam-se semelhanças com os resultados obtidos para a mesma espécie em trabalhos de Nery (2010), o qual observou que as maiores porcentagens de enraizamento ocorreram na primavera (77,1) e verão (58,8%), e a menor no inverno (41,3%). As diferenças de valores entre o presente estudo e os resultados de Nery (2010), possivelmente ocorrem devido à época de coleta do material vegetal, pois o autor realizou coletas sempre no segundo mês de cada estação do ano, e no atual trabalho as coletas foram realizadas considerando as mudanças fenológicas da espécie.

A formação de calos em estacas de *Psychotria nuda* ocorre, frequentemente, na região da lesão sofrida, podendo também ocorrer nas partes superiores ao corte. Trata-se de uma estrutura bastante compacta de coloração branca (Anexo 14 - A, B). Na comparação das fenofases para cada ambiente o teste de comparação de médias indicou que tanto na encosta como na planície a fenofase 3 foi superior e estatisticamente diferente das demais fenofases (Tabela 1.6).

Quando considerados os ambientes dentro de cada fenofase, o teste revelou que para as fenofases 1 e 4 a planície foi superior e estatisticamente diferente da encosta enquanto que para as fenofases 2 e 3 não foram verificadas diferenças entre os ambientes.

As maiores porcentagens de estacas com calos obtidas na fenofase 3 se deve à menor formação de raízes adventícias nessa fenofase. Uma possível explicação para essa resposta é

que devido a redução da atividade vegetativa e ausência de brotações foliares e floral na fenofase 3, possivelmente a quantidade endógena de auxinas não foi suficiente para superar a concentração de citocinina, ocorrendo assim a formação de células desdiferenciadas que multiplicam-se formando o tecido caloso. Um meristema pode induzir distintos tipos de diferenciação; a regulação do processo dependerá da proporção entre auxina e citocininas. Quando a quantidade de auxinas é maior em relação à de citocininas são formados primórdios radiciais; já quando é intermediária, só ocorre à formação de calos e quando a concentração de auxinas é baixa, o tecido se diferencia em gemas foliares (HARTMANN *et al.*, 2011).

Nesse contexto, em ambos os ambientes, verifica-se que as fenofases 1 e 2, épocas com alta atividade vegetativa, apresentaram as menores porcentagens de estacas com calos, ocorrendo preferencialmente a diferenciação de células meristemáticas em primórdios radiciais.

TABELA 1.6 - Porcentagens de estacas com calos de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	2,0 B c	10,0 A c	6,0
2	4,0 A c	1,5 A d	2,8
3	36,3 A a	40,8 A a	38,5
4	9,0 B b	22,0 A b	15,5
Médias	12,8	18,6	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Nas fenofases 3 e 4, épocas com baixa atividade vegetativa, um maior tempo no leito de enraizamento pode promover um aumento na indução radicial, uma vez que calos são massas de células indiferenciadas, as quais podem vir a se diferenciar, formando os primórdios radiciais (HARTMANN *et al.*, 2011). O período no leito de enraizamento varia de acordo com a espécie estudada, não havendo um período ótimo comum. Oliveira *et al.* (2001) trabalhando com diversas espécies nativas de mata de galeria, encontraram uma variação de 2 a 4 meses para a formação do sistema radicial. Para *Erythrina falcata* Benthams, o período necessário no leito de enraizamento é inferior ou equivalente a 30 dias (CUNHA *et al.*, 2003; WENDLING *et al.*, 2005).

Comparando as médias gerais das quatro fenofases com os resultados obtidos por Nery (2010), o qual trabalhou com estaquia da mesma espécie em épocas de coletas semelhantes às do presente estudo, verifica-se diferenças principalmente com relação à fenofase 3 (outono),

onde não foi verificada formação de calos pelo autor, fato que refletiu em uma maior porcentagem de estacas mortas.

### 3.3.1.2. Número e comprimento das raízes formadas

Para o número de raízes formadas por estaca, a interação entre os fatores não foi significativa, indicando que estes fatores são independentes e apresentando efeitos significativos isoladamente. Já para a variável comprimento das três maiores raízes por estaca, a interação entre os fatores foi significativa, indicando que os fatores são dependentes (Tabela 1.7).

TABELA 1.7 - Análise de variância (teste F) para o número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes por estaca (cm) de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	
		Número	Comprimento
Fenofases (A)	3	109,233 <sup>**</sup>	31,225 <sup>**</sup>
Ambientes (B)	1	21,609 <sup>**</sup>	0,018 <sup>**</sup>
Interação AxB	3	3,703 <sup>ns</sup>	1,806 <sup>**</sup>
Erro	152	3,540	0,227
Total	159		
Coeficiente de variação (%)		39,15	29,60
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		10,165 <sup>ns</sup>	13,583 <sup>ns</sup>

<sup>\*\*</sup>= significativo a 1%; <sup>ns</sup>= não significativo a 5%

Mesmo que a análise de variância para a variável número de raízes por estaca tenha indicado significância no efeito dos ambientes de coleta, o teste de Tukey não detectou diferença entre as médias (Tabela 1.8). Isso ocorre devido ao teste apresentar maior rigidez com relação a outros testes de comparação de médias.

As fenofases em que se encontram as plantas influenciam significativamente o número de raízes, e os melhores resultados ocorreram nas fenofases 1 e 2, apresentando 5,7 e 6,4 raízes por estaca respectivamente, os quais não diferem estatisticamente entre si. Já o menor valor foi observado na fenofase 3 (2,7), o qual diferiu estatisticamente das demais fenofases (Tabela 1.8).

TABELA 1.8 - Número de raízes por estaca e comprimento médio das três maiores raízes (cm) por estaca de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Número de raízes			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	6,4	5,0	5,7 ab
2	6,7	6,2	6,4 a
3	2,7	2,7	2,7 c
4	5,0	3,9	4,4 b
Médias	5,2 A	4,4 A	
Comprimento de raízes			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	2,7 A a	2,2 B a	2,5
2	1,8 B b	2,4 A a	2,1
3	0,4 A c	0,5 A c	0,4
4	1,5 A b	1,4 A b	1,5
Médias	1,6	1,6	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Para o comprimento das raízes formadas de *Psychotria nuda*, comparando as fenofases em cada ambiente, o teste de comparação de médias (Tabela 1.8) indicou que na encosta a fenofase 1 apresentou o maior valor (2,7 cm) diferindo estatisticamente das demais fenofases. Para a planície os maiores valores foram obtidos nas fenofases 1 e 2, as quais são estatisticamente iguais entre si e diferentes das fenofases 3 e 4. Os menores valores de comprimento das raízes foram obtidos na fenofase 3, a qual difere estatisticamente das demais fenofases, em ambos os ambientes, apresentando 0,4 cm para a encosta e 0,5 cm para a planície.

Nery (2010), em estudo realizado com *Psychotria nuda*, obteve respostas semelhantes para o comprimento das três maiores raízes por estaca, onde as épocas de coleta primavera e verão apresentaram os maiores valores em relação ao outono e inverno, sendo que os valores obtidos assemelham-se aos da presente pesquisa. Entretanto com relação ao número de raízes formadas por estaca, o mesmo autor obteve resultados superiores, principalmente comparando-se as épocas outono e inverno, próximas às fenofases 3 e 4, respectivamente.

Quando considerados os ambientes dentro de cada fenofase, o teste revelou que o efeito dos ambientes ocorre em épocas com maior atividade vegetativa, sendo que para a fenofase 1 a encosta foi superior e estatisticamente diferente da planície, e para a fenofase 2 a

planície foi estatisticamente superior a encosta, enquanto que nas fenofases com redução da atividade vegetativa (3 e 4) não foi verificada diferença entre os ambiente.

Considerando as médias do número de raízes formadas, verifica-se que os melhores resultados obtidos coincidem com as épocas com maior porcentagem de enraizamento, ou seja, nas fenofases 1 e 2 (Tabela 1.4). Para o comprimento das três maiores raízes, também se verificou que o maior desenvolvimento das raízes ocorreu nas condições que melhor favoreceram a porcentagem de enraizamento. Assim, conclui-se que as melhores condições para a indução das raízes adventícias também favorece o desenvolvimento do sistema radicial. Essas relações também observadas por Tofanelli *et al.* (2002), Mindêllo-Neto *et al.* (2006), Bastos *et al.* (2009) e Santos *et al.* (2011). Entretanto, nem sempre os melhores tratamentos para a porcentagem de enraizamento apresentam os maiores valores para o número e comprimento das raízes formadas, fato confirmado por Bastos (2002).

Além da porcentagem de enraizamento, o número e comprimento de raízes formadas pelas estacas foram as variáveis mais relevantes na produção de mudas de *Pyrus calleryana* Decne (ANTUNES *et al.*, 1996). Uma melhor resposta para estas variáveis indica que as mudas posteriormente formadas possuirão um melhor desenvolvimento, uma vez que mudas com melhor sistema radicial terão maiores chances de sobrevivência quando transplantadas para vaso ou campo (REIS *et al.*, 2000).

Observando os resultados para o número e comprimento de raízes por estaca, pode-se identificar comportamento de resposta semelhante aos obtidos para porcentagem de estacas enraizadas, sendo os melhores resultados associados ao comportamento fenológico da espécie, especificamente a presença de brotações foliares nas matrizes nos períodos de crescimento vegetativo.

Em épocas de maior crescimento vegetativo, os ramos apresentam alta atividade fisiológica, devido ao desenvolvimento das brotações, e quando se inicia o processo de formação de raízes adventícias nas estacas confeccionadas desses ramos, a relação fonte-dreno modifica-se, onde a região da base da estaca torna-se um forte dreno. Assim, os carboidratos produzidos nas folhas maduras que estavam sendo utilizados para a formação das brotações são redirecionados para suprir as necessidades energéticas do processo de formação das raízes. O crescimento das raízes, nessas épocas, é favorecido, resultando em maiores comprimentos das raízes formadas (Tabela 1.8), uma vez que esses compostos servem como fonte de energia e produção de esqueletos carbônicos necessários para a produção de novos tecidos, além de fornecerem energia metabólica para a biossíntese de ácidos nucleicos, proteínas e outras substâncias essenciais à formação de raízes (HARTMANN *et al.*, 2011).

### 3.3.1.2. Porcentagem de estacas vivas e mortas

A variável porcentagem de estaca vivas apresentou interação significativa entre os fatores, indicando que estes fatores são dependentes (Tabela 1.9). Para a variável porcentagem de estacas mortas não foi realizada análise estatística devido a grande quantidade de valores nulos, o que acarretou na heterogeneidade das variâncias dos tratamentos, sendo que nenhuma forma de transformação dos dados cumpriu com esse pressuposto da análise de variância.

TABELA 1.9 - Análise de variância (teste F) para porcentagem de estacas vivas de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio
Fenofases (A)	3	936,875 <sup>**</sup>
Ambientes (B)	1	75,625 <sup>ns</sup>
Interação AxB	3	992,708 <sup>**</sup>
Erro	152	30,000
Total	159	
Coeficiente de variação (%)		80,40
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		13,968 <sup>ns</sup>

<sup>\*\*</sup>= significativo a 1%; <sup>ns</sup>= não significativo a 5%

A porcentagem de mortalidade das estacas de *Psychotria nuda* no geral foi baixa (Tabela 1.10). A maior porcentagem foi observada da fenofase 1, no ambiente planície, apresentando 11,5%; nessa fenofase, e no mesmo ambiente, a porcentagem de estacas vivas foi a que apresentou maior valor (11%) diferindo estatisticamente das demais fenofases. Já no ambiente encosta, a maior porcentagem de estacas vivas ocorreu na fenofase 3 (21,3%), valor estatisticamente superior aos demais; nessa fenofase, no mesmo ambiente, também obteve-se baixa mortalidade (1%) e alta porcentagem de estacas com calo (36,6%). Verifica-se também que as fenofases 3 e 4, as quais apresentaram os menores valores de enraizamento (Tabela 1.4), proporcionam baixa porcentagem de estacas mortas, indicando que um maior tempo no leito de enraizamento, possivelmente, aumentaria a formação de raízes adventícias, uma vez que, as estacas permaneceram vivas ou com a formação de calos.

TABELA 1.10 - Médias das porcentagens de estacas vivas e mortas de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

<b>Vivas</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	3,3 B b	11,0 A a	7,1
2	4,0 A b	4,0 A b	4,0
3	21,3 A a	5,8 B b	13,5
4	1,5 A b	3,8 A b	2,6
Médias	7,5	6,1	

<b>Mortas</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	4,8	11,5	8,1
2	1,8	2,5	2,1
3	1,0	0,8	0,9
4	0,5	0,0	0,3
Médias	2,0	3,7	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Os resultados de mortalidade foram mais baixos quando comparados às porcentagens de estacas mortas obtidas por Nery (2010), para a mesma espécie, e similares aos obtidos por Zuffellato-Ribas e Witt (2009).

Com relação ao efeito dos ambientes de coleta, a encosta, na maioria das condições, foi estatisticamente superior ou igual ao ambiente planície para a variável porcentagem de estacas vivas. Somente na fenofase 1 a planície apresentou resultado superior à encosta.

#### 3.3.1.4. Porcentagem de estacas brotadas, número e comprimento das brotações formadas

Para a porcentagem de estacas brotadas não ocorreu interação significativa entre os fatores (Tabela 1.11); somente as fenofases apresentaram efeito significativo para essa variável. Já o número de brotações por estaca e comprimento médio das três maiores brotações apresentaram interações significativas, indicando que essas variáveis são influenciadas pelos fatores de forma dependente.



TABELA 1.11 - Análise de variância (teste F) para porcentagem de estacas brotadas, número de brotações e comprimento médio das três maiores brotações (cm) por estaca de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio		
		Brotadas	Número	Comprimento
Fenofases (A)	3	11002,917 <sup>**</sup>	0,754 <sup>**</sup>	7,159 <sup>**</sup>
Ambientes (B)	1	1050,625 <sup>ns</sup>	0,374 <sup>*</sup>	0,946 <sup>**</sup>
Interação AxB	3	586,875 <sup>ns</sup>	0,408 <sup>**</sup>	0,234 <sup>*</sup>
Erro	152	301,250	0,059	0,071
Total	159			
Coeficiente de variação (%)		24,53	15,90	23,06
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		11,986 <sup>ns</sup>	8,518 <sup>ns</sup>	12,264 <sup>ns</sup>

\* = significativo a 5%; \*\* = significativo a 1%; <sup>ns</sup> = não significativo a 5%

Os resultados para a porcentagem de estacas brotadas formam dois grupos, os quais diferem estatisticamente entre si, onde as melhores condições para a formação de brotações foi observada nas fenofases 1 e 4, enquanto as fenofases 2 e 3 apresentaram os menores valores (Tabela 1.12). Aparentemente essa reposta ocorreu devido à maior presença de flores e frutos maduros nas fenofases 2 e 3, a qual resultou na diminuição das brotações nessas épocas.

A presença de estruturas florais e frutos nas plantas matrizes indica que nessas épocas, ocorre uma translocação maior de reservas para os ápices dos ramos, os quais funcionam como drenos, necessárias para o desenvolvimento dessas estruturas. Assim, possivelmente, menores quantidades de açúcares estão presentes nos ramos, resultando em uma menor porcentagem de brotação nessas fenofase. Já nas fenofases 1 e 4 foram observadas ausência ou pequena formação de flores e frutos, em ambos os ambientes de desenvolvimento das mesmas. Assim, os carboidratos translocáveis possivelmente encontram-se em maiores concentrações nos ramos e consequentemente nas estacas, favorecendo seu brotamento.

Os drenos fisiológicos incluem órgãos não-fotossintéticos ou órgãos fotossintéticos que não produzam fotoassimilados suficientes para suas próprias necessidades de crescimento ou de reserva. Os ápices caulinares e radiculares são normalmente os drenos principais durante o crescimento vegetativo, os frutos, via de regra, tornam-se drenos principais durante as épocas reprodutivas das espécies, onde a principal fonte para esses drenos são as folhas fisiologicamente ativas próximas (TAIZ; ZEIGER, 2010).

A relação entre a porcentagem de brotamento e a presença de flores e frutos pode ser observada na Tabela 1.13. A correlação linear apresentou coeficientes negativos, e mesmo na

ausência de significância, observam-se coeficientes altos, ou seja, a porcentagem de brotação diminui com o aumento da porcentagem de matrizes com flores e frutos.

Os resultados obtidos diferem dos apresentados por Nery (2010), o qual relata que estacas de *Psychotria nuda*, possuem maior capacidade de brotação nas épocas com temperaturas elevadas, justificando essa resposta pelo aumento da atividade vegetativa nessas épocas, ocorrendo alta atividade metabólica e contribuindo assim para a emissão de brotos; entretanto essa relação não foi observada nesse estudo.

TABELA 1.12 - Porcentagens de estacas brotadas de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	86,3	82,0	84,1 a
2	53,8	65,5	59,6 b
3	52,5	54,5	53,5 b
4	80,3	91,3	85,8 a
Médias	68,2	73,3	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

TABELA 1.13 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre a porcentagem de matrizes com presença de flores e frutos e a porcentagem de estacas brotadas, para *Psychotria nuda*.

Ambientes (n=4)	Matrizes com flores (%)
Encosta	-0,769 <sup>ns</sup>
Planície	-0,790 <sup>ns</sup>
Geral (n=8)	-0,749 <sup>*</sup>
Ambientes (n=4)	Matrizes com frutos (%)
Encosta	-0,964 <sup>*</sup>
Planície	-0,441 <sup>ns</sup>
Geral (n=8)	-0,559 <sup>ns</sup>

\* = significativo a 5%, <sup>ns</sup> = não significativo a 5%

Visando um melhor entendimento da relação entre as variáveis relacionadas ao enraizamento, ou seja, porcentagem de estacas enraizadas, número e comprimento das raízes formadas e a porcentagem de estacas enraizadas e brotadas, foram realizados teste de correlações lineares simples com suas respectivas significâncias.

Com os resultados gerais obtidos verificou-se que a maioria das fenofases apresentou correlação positiva significativa entre a porcentagem de estacas enraizadas e a porcentagem de estacas brotadas, ou seja, o fato das estacas de *Psychotria nuda* emitir raízes está

relacionado à emissão de brotações. Somente a fenofase 2 não apresentou relação entre as variáveis porcentagem de estacas enraizadas e a porcentagem de estacas brotadas (Tabela 1.14). Considerando as correlações significativas, não se pode concluir que o enraizamento interfere nas brotações ou vice versa, uma vez que não foram realizadas avaliações no decorrer do período de enraizamento; sendo assim não se pode determinar qual das estruturas foram formadas primeiro, se o sistema radicial ou as brotações; ou se ambos foram formados concomitantemente.

Nery (2010), trabalhando com estacas de *Psychotria nuda*, obteve alta porcentagem de estacas brotadas, superando as porcentagens de enraizamento, concluindo que a espécie utiliza maior quantidade de reservas para emitir brotações, prejudicando assim o enraizamento da espécie. Já Zuffellato-Ribas e Witt (2009), testando a influência dos reguladores vegetais na estaquia de *Psychotria nuda*, obtiveram alta porcentagem de estacas brotadas, onde segundo os resultados dos autores, não influenciaram a porcentagem de enraizamento.

Contudo, algumas considerações podem ser feitas levando em consideração os resultados descritos até o momento. Nas fenofases 1 e 2, as plantas matrizes apresentavam grande quantidade de brotações foliares em pleno desenvolvimento vegetativo, levando a concluir que, nessas épocas, os ramos apresentavam maiores quantidades de auxinas livres, o que foi comprovado pela alta porcentagem de enraizamento em ambas as fenofases. Assim, uma correlação positiva na fenofase 1 provavelmente ocorreu devido a influência do sistema radicial sobre a formação da parte aérea, por meio da manutenção do estado hídrico da estaca.

Entretanto, para na fenofase 2, não foi observada correlação significativa. Essa resposta pode ser resultado de uma menor porcentagem de estacas brotadas ocorridas nessa época. Os ramos apresentavam, possivelmente, baixa quantidade de carboidratos nessa fenofase. Assim, mesmo com o potencial das raízes formadas em manter o turgor das células, o requerimento energético para a formação das brotações não foi suprido.

Nas fenofases 3 e 4, as matrizes caracterizavam-se pela redução do crescimento vegetativo onde, na fenofase 3 as matrizes não apresentavam emissão de brotações foliares. Como esperado, a porcentagem de enraizamento nessas épocas foi menor. Nesse caso, as brotações nas estacas podem ter ocorrido antes da iniciação radicial, em função de uma relação citocinina/auxina maior, com a menor quantidade de auxina livre nos ramos. Com o posterior desenvolvimento das brotações, as quais são fonte de auxinas (BENINCASA; LEITE, 2004), o balanço entre esses dois hormônios pode ter-se modificado, favorecendo a formação de calos e/ou raízes (HARTMANN *et al.*, 2011).

TABELA 1.14 - Coeficientes de correlação de *Pearson* (r) entre a porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes (cm) por estaca e a porcentagem de estacas brotadas, para *Psychotria nuda*.

<b>Enraizadas</b>			
Fenofases	Ambientes (n=20)		Geral (n=40)
	Encosta	Planície	
1	0,484 <sup>*</sup>	0,906 <sup>**</sup>	0,877 <sup>**</sup>
2	0,009 <sup>ns</sup>	0,275 <sup>ns</sup>	0,139 <sup>ns</sup>
3	0,820 <sup>**</sup>	0,674 <sup>**</sup>	0,749 <sup>**</sup>
4	0,418 <sup>ns</sup>	0,723 <sup>**</sup>	0,616 <sup>**</sup>
Geral (n=80)	0,638 <sup>**</sup>	0,654 <sup>**</sup>	
<b>Nº de raízes</b>			
Fenofases	Ambientes (n=20)		Geral (n=40)
	Encosta	Planície	
1	-0,220 <sup>ns</sup>	0,479 <sup>*</sup>	0,306 <sup>ns</sup>
2	0,088 <sup>ns</sup>	0,087 <sup>ns</sup>	0,050 <sup>ns</sup>
3	0,513 <sup>*</sup>	0,467 <sup>*</sup>	0,486 <sup>**</sup>
4	0,254 <sup>ns</sup>	0,498 <sup>*</sup>	0,365 <sup>*</sup>
Geral (n=80)	0,415 <sup>**</sup>	0,489 <sup>**</sup>	
<b>Comprimento de raízes</b>			
Fenofases	Ambientes (n=20)		Geral (n=40)
	Encosta	Planície	
1	0,287 <sup>ns</sup>	0,171 <sup>ns</sup>	0,338 <sup>*</sup>
2	0,383 <sup>ns</sup>	0,561 <sup>*</sup>	0,518 <sup>**</sup>
3	0,714 <sup>**</sup>	0,065 <sup>ns</sup>	0,433 <sup>**</sup>
4	0,598 <sup>**</sup>	0,698 <sup>**</sup>	0,637 <sup>**</sup>
Geral (n=80)	0,678 <sup>**</sup>	0,614 <sup>**</sup>	

\* = significativo a 5%, \*\* = significativo a 1%, <sup>ns</sup> = não significativo a 5%. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Com relação às correlações da porcentagem de brotações com o comprimento das três maiores raízes formadas (Tabela 1.14), verificam-se, no geral, correlações positivas e significativas para o comprimento das raízes. Possivelmente, um maior comprimento das raízes, e conseqüente aumento na área de absorção favorecem o aumento na porcentagem de estacas brotadas. Já para o número de raízes, nas épocas com maior atividade vegetativa, a relação com a porcentagem de brotação é inexistente, enquanto nas épocas de menor atividade vegetativa a correlação torna-se significativa. Essa resposta pode ser justificada pelo fornecimento de auxina pelas brotações, sendo esse comportamento citado anteriormente para as correlações entre o enraizamento e a porcentagem de brotações.

Para as variáveis número e comprimento das brotações formadas (Tabela 1.15), os ambientes de desenvolvimento das plantas matrizes apresentaram efeito, onde somente na fenofase 4 houve diferença estatística entre a encosta (1,4) e a planície (1,8) para o número de

brotações, e na fenofase 3 para o comprimento das três maiores brotações, apresentando 0,5 cm para a encosta e 0,8 cm para planície.

Comparando as fenofases em cada ambiente, o teste de comparação de médias indicou que, para o número de brotações, na encosta, a fenofase 1 foi estatisticamente superior às demais fenofases. Na planície a fenofase 4 apresenta o maior número de brotações formadas (1,8), valor estatisticamente igual ao obtido na fenofase 1 e diferente das fenofases 2 e 3. No geral, os resultados obtidos para o número de brotações por estaca, apresentam resposta semelhante à obtida para a porcentagem de estacas brotadas por estaca, uma vez que nas fenofases 2 e 3, épocas em que as matrizes apresentavam flores e frutos, as quais são fortes drenos fisiológicos, obteve-se os valores mais baixos para o número de brotações.

Nos dois ambientes a fenofase 1 mostrou as melhores condições para a variável, possivelmente, devido ao alto crescimento vegetativo, ausência de flores e frutos e enraizamento elevado, essa fenofase foi estatisticamente superior a todas as demais fenofases no ambiente encosta, e na planície somente diferiu da fenofase 3, a qual apresenta condições menos favoráveis à formação de brotações, ou seja, baixo crescimento vegetativo, presença de matrizes com flores e frutos, além do baixo enraizamento adventício.

TABELA 1.15 - Número de brotações e comprimento médio das três maiores brotações (cm) por estaca de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

<b>Número de brotações</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	1,7 A a	1,7 A ab	1,7
2	1,4 A b	1,5 A bc	1,5
3	1,4 A b	1,3 A c	1,4
4	1,4 B b	1,8 A a	1,6
Médias	1,5	1,6	
<b>Comprimento de brotações</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	1,7 A a	1,6 A a	1,6
2	1,1 A b	1,3 A b	1,2
3	0,5 B c	0,8 A c	0,6
4	1,1 A b	1,2 A b	1,2
Médias	1,1	1,2	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Para o comprimento das brotações, a fenofase 3 foi estatisticamente inferior para os dois ambientes de coleta (Tabela 1.15), nessa fenofase as matrizes apresentavam menor atividade vegetativa, presença de flores e frutos, além de proporcionar os valores mais baixos de enraizamento adventício (Tabela 1.5), indicando que esses fatores influenciam a capacidade de brotamento das estacas. Já a fenofase 1 apresentou as melhores condições para o desenvolvimento das brotações, em ambos os ambientes, apresentando valores estatisticamente superiores, sendo essa resposta decorrente possivelmente do alto crescimento vegetativo e ausência de flores e frutos das plantas matrizes, sendo que a presença das brotações nas estacas não apresentaram influência no enraizamento, visto que o mesmo, nessa época foi alto (Tabela 1.5).

As fenofase 2 e 4 são estatisticamente iguais tanto na encosta como na planície, a fenofase 2 apresenta maior atividade vegetativa comparada a fenofase 4, entretanto, mesmo com a alta atividade vegetativa das matrizes a presença de flores e frutos pode ter prejudicado o desenvolvimento das brotação devido a menor quantidade de açúcares translocáveis disponíveis nos ramos. Assim, a resposta das duas fenofases foi estatisticamente equivalente, visto que a fenofase 4, mesmo apresentando menor crescimento vegetativo, ocorre a ausência de flores e frutos na presente fenofases. Deste modo, mesmo com características fenológicas distintas, a resposta das fenofases 2 e 4, para a porcentagem de brotação, se torna semelhante.

Análises de correlações lineares foram realizadas entre as variáveis relacionadas ao desenvolvimento aéreo (número e comprimento das brotações) e as variáveis referentes ao sistema radicial (porcentagem de enraizamento, número e comprimento das raízes), visando comprovar a possível relação positiva ou negativa entre as variáveis. Devido à maioria dos coeficientes não apresentarem relação significativa, optou-se não apresentar as matrizes de correlação. Somente o comprimento das três maiores raízes apresentou correlação significativa com o número e comprimento das brotações formadas. E considerando os coeficientes gerais das fenofases, observa-se que na fenofase 2, tanto o número ( $0,483^{**}$ ) como o comprimento ( $0,544^{**}$ ) das brotações possuem correlação positiva e significativa com o comprimento das raízes formadas. Possivelmente, o maior resultado de enraizamento ocorrido nessa fenofase, juntamente com a menor quantidade de açúcares disponíveis para o desenvolvimento das brotações, foram responsáveis por esse efeito, ou seja, um maior desenvolvimento das raízes é fator determinante no desenvolvimento do sistema aéreo.

Considerando os coeficientes médios dos ambientes, o comprimento das três maiores raízes apresentou correlação significativa e positiva com o número e comprimento das brotações formadas, apresentando coeficientes de  $0,485^{**}$  (encosta) e  $0,350^{**}$  (planície) entre

o comprimento das raízes e o número de brotações, e de 0,714<sup>\*\*</sup> (encosta) e 0,604<sup>\*\*</sup> (planície) entre o comprimento das raízes e o comprimento das brotações formadas.

Com os resultados descritos para as variáveis ligadas ao sistema aéreo da estaca, pode-se concluir que a indução e desenvolvimento das brotações não prejudica o processo de enraizamento adventício de estacas de *Psychotria nuda* em nenhuma das condições testadas. Adicionalmente, pode-se inferir que o desenvolvimento das brotações, em épocas de menor atividade vegetativa, auxilia a formação do sistema radicial. Bastos *et al.* (2009), em estudo com *Averrhoa carambola* L., obtiveram relações positivas entre estacas brotadas e variáveis relacionadas às raízes adventícias, comprovando assim, a possível relação benéfica do sistema aéreo das estacas. Entretanto, outros autores, trabalhando com outras espécies, relatam que a formação de brotações interfere negativamente no enraizamento de estacas (ALTHAUS *et al.*, 2005; LIMA, *et al.*, 2006).

### 3.3.1.5. Porcentagem de estacas com folhas originais

Na Tabela 1.16 verifica-se interação significativa entre os fatores, para a variável permanência de duas folhas originais, indicando dependência dos fatores.

TABELA 1.16 - Análise de variância (teste F) para porcentagens de estacas com permanência das duas folhas originais de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio
Fenofases (A)	3	1,742 <sup>**</sup>
Ambientes (B)	1	0,225 <sup>**</sup>
Interação AxB	3	0,088 <sup>*</sup>
Erro	152	0,029
Total	159	
Coeficiente de variação (%)		14,34
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		8,013 <sup>ns</sup>

\* = significativo a 5%; \*\* = significativo a 1%; <sup>ns</sup> = não significativo a 5% (Dados transformado por arc sem  $\sqrt{(x/100)}$ )

Na Tabela 1.17 estão apresentados os resultados para estacas que mantiveram as duas folhas originais mantidas no momento da confecção das mesmas, considerado o experimento na sua totalidade, ou seja, sem considerar se a estaca estava enraizada, com calos, viva ou morta. Em ambos os ambientes verifica-se que a fenofase 3 apresentou as maiores porcentagens de estacas com duas folhas originais, valor estatisticamente superior às demais fenofases, enquanto a fenofase 1 apresentou valores inferiores significativos também

diferindo das demais fenofases. Esses resultados podem estar relacionados às temperaturas climáticas nas épocas das referidas fenofases, onde os melhores resultados coincidem com as temperaturas mais amenas registradas no ano, enquanto os valores mais baixos ocorrem na época com temperaturas mais altas (Anexo 3).

Betanin e Nienow (2010) ressaltam que a presença de folhas pode ser importante no enraizamento, mas a retenção foliar é mais uma consequência do enraizamento que um pré-requisito para que o mesmo ocorra. Entretanto, na fenofase 3, época com a maior porcentagem de retenção foliar, ocorre os valores mais baixos de enraizamento (Tabela 1.4), assim a afirmação relatada por Betanin e Nienow (2010) não pode ser generalizada. Possivelmente, a variação dos resultados entre as fenofases ocorre devido as condições climáticas em que as matrizes foram submetidas, visto que a maior porcentagem de retenção foliar ocorreu na época com as menores temperaturas e pluviosidade.

Quando comparados os ambientes em cada fenofase, observou-se que a encosta apresentou as maiores porcentagens de estacas com permanência de duas folhas originais nas fenofases 1, 2 e 4, diferindo estatisticamente na planície. Somente na fenofase 3 a planície mostrou-se estatisticamente superior a encosta, sendo assim a encosta, na maioria das condições, proporcionou melhores condições para a manutenção das folhas. A diferença ocorrida na fenofase 3, possivelmente, se deve à baixa pluviosidade registrada para a época em comparação as de mais fenofases (Anexo 3), assim, a planície, que apresenta melhor condição de retenção de água, possibilitou uma manutenção melhor do estado hídrico das matrizes, e consequentemente uma maior retenção das folhas pelas estacas.

TABELA 1.17 - Porcentagens de estacas com permanência das duas folhas originais de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	69,0 A d	52,0 B d	60,5
2	88,8 A c	84,5 B b	86,6
3	94,3 B a	95,5 A a	94,9
4	90,5 A b	82,5 B c	86,5
Médias	85,6	78,6	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Comparando as porcentagens obtidas na presente variável (Tabela 1.17) com a porcentagem de estacas enraizadas (Tabela 1.4), pode-se verificar que nas fenofases que



apresentam os melhores resultados de enraizando (fenofase 1 e 2) ocorre uma menor permanência das duas folhas originais. Assim, possivelmente a permanência de folhas durante o período de enraizamento apresenta maior influência na formação de raízes nas fenofases em que as matrizes se encontram em menor atividade vegetativa (fenofases 3 e 4). Essa relação foi verificada por Nery (2010), o qual, estudando a influência das folhas no enraizamento de estacas de *Psychotria nuda*, obteve as maiores diferenças de enraizamento, entre estacas sem folhas e com presença das mesmas e sem a aplicação de reguladores vegetais, em épocas com menor crescimento vegetativo.

Uma maior influência da permanência das folhas em estacas coletadas nas fenofases com menor atividade vegetativa, sobre a formação de raízes adventícias, pode ser justificado pelo pequeno desenvolvimento ou ausência das brotações foliares nas matrizes nas fenofases 3 e 4 (Anexos 8 e 9). Assim, possivelmente com a redução da concentração interna de auxina e cofatores do enraizamento, os quais são produzidos em órgãos juvenis como as brotações foliares (BENINCASA; LEITE, 2004; TAIZ e ZEIGER, 2010), a manutenção das folhas durante o período de enraizamento favoreceu a formação de raízes em estaca oriundas de matrizes com redução do crescimento vegetativo, devido à translocação para a base das estacas de algumas substâncias nelas existentes, indispensáveis para o enraizamento.

Nesse contexto, um maior tempo no leito de enraizamento, nas fenofases 3 e 4, segundo os resultados até o momento apresentados, poderia aumentar a porcentagem de enraizamento, visto que as estacas permaneceram vivas ou com calos, apresentando baixa mortalidade nos dois ambientes de coleta. O tempo de permanência das estacas varia entre as espécies (OLIVEIRA *et al.*, 2001); entretanto, considerando os resultados obtidos, esse tempo também pode variar dentro de uma mesma espécie, dependendo principalmente da fenofase que se encontram as plantas matrizes.

Van Overbeek (1946) trabalhando com enraizamento de estacas de *Hibiscus rosa-sinensis* L. na presença e ausência de luz, concluíram que no enraizamento de estacas, as folhas não são importantes para a produção fotossintética de carboidratos, mais sim para a translocação de algumas substâncias nelas existentes para a base das estacas, as quais são indispensáveis para o enraizamento. E por meio da análise química da base da estaca, o autor verificou que o conteúdo de açúcares e de nitrogênio era consideravelmente alto, concluindo que o efeito principal das folhas no processo de formação de raízes se dá por meio do fornecimento de nutrientes das folhas para a base da estaca.

Assim, para um melhor entendimento da relação entre a variável permanência das duas folhas originais e as variáveis relacionadas à formação de raízes adventícias, foram

realizadas análises de correlações simples entre a presente variável e a porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes formadas e comprimento das três maiores raízes formadas por estaca.

Para a correlação de *Pearson* (Tabela 1.18), realizada entre a permanência das duas meias folhas na estaca e a porcentagem de estacas enraizadas, os resultados indicam que, na maioria das condições testadas houve correlação positiva e significativa entre a permanência das folhas originais e a porcentagem de enraizamento, indicando que a manutenção das folhas nas estacas durante o período de enraizamento favorece a formação de raízes adventícias. Nas fenofases 3 e 4 observa-se que a associação entre as variáveis é maior, indicando que nessas épocas a permanência das folhas é fundamental para que ocorra um bom enraizamento. Nas fenofases 3 e 4, as matrizes encontravam-se com baixa atividade fisiológica nos ramos, e consequentemente, o transporte de auxinas e cofatores do enraizamento das folhas para a base das estacas foi fundamental para a iniciação das raízes adventícias.

A influência das folhas remanescentes foi verificada por Ferreira e Ferrari (2010) em estacas de *Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L. cv. Gefner, onde as maiores porcentagens de enraizamento foram obtidas em estacas cujas folhas remanescentes foram mantidas. Outros autores também enfatizam a influência positiva da retenção foliar durante o período de enraizamento em diversas espécies, como Neves *et al.* (2006), trabalhando com *Erythrina falcata*, Knapik *et al.* (2003) e Bortolini *et al.* (2008), respectivamente com as quaresmeiras *Tibouchina pulchra* e *Tibouchina sellowiana* e Almeida *et al.* (2008), estudando *Syzygium malaccense* L.

Já nas fenofases em que as matrizes estavam em plena atividade vegetativa (fenofase 1 e 2) observam-se valores mais baixos dos coeficientes de correlação (Tabela 1.18), sendo que, estacas oriundas de matrizes sob essas condições apresentaram a maior porcentagem de enraizamento (Tabela 1.4). Essa resposta indica que a indução do enraizamento é menos influenciada pela retenção foliar, uma vez que a formação de raízes ocorre mesmo com a queda precoce das folhas no leito de enraizamento, demonstrando que as matrizes sob essas condições podem apresentar concentrações de auxinas e cofatores suficientes para a indução do sistema radicial. A indução do sistema radicial mesmo com a queda precoce das folhas foi observada por Sasso *et al.* (2010), para *Plinia cauliflora* (DC) Berg, os quais relataram que a maioria das estacas lenhosas, coletadas em janeiro/2008 não manteve suas folhas, inclusive naquelas estacas que enraizaram.

TABELA 1.18 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre a porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes por estaca e a permanência de duas meias folhas, para *Psychotria nuda*.

<b>Enraizadas</b>			
Fenofases	Ambientes (n=20)		Geral (n=40)
	Encosta	Planície	
1	0,222 <sup>ns</sup>	0,609 <sup>**</sup>	0,658 <sup>**</sup>
2	0,811 <sup>**</sup>	0,403 <sup>ns</sup>	0,609 <sup>**</sup>
3	0,998 <sup>**</sup>	0,995 <sup>**</sup>	0,997 <sup>**</sup>
4	0,828 <sup>**</sup>	0,853 <sup>**</sup>	0,874 <sup>**</sup>
Geral (n=80)	0,887 <sup>**</sup>	0,868 <sup>**</sup>	
<b>Nº de raízes</b>			
Fenofases	Ambientes (n=20)		Geral (n=40)
	Encosta	Planície	
1	0,466 <sup>*</sup>	0,525 <sup>**</sup>	0,561 <sup>**</sup>
2	0,067 <sup>ns</sup>	0,218 <sup>ns</sup>	0,144 <sup>ns</sup>
3	0,666 <sup>**</sup>	0,771 <sup>**</sup>	0,705 <sup>**</sup>
4	0,464 <sup>*</sup>	0,523 <sup>*</sup>	0,514 <sup>**</sup>
Geral (n=80)	0,575 <sup>**</sup>	0,552 <sup>**</sup>	
<b>Comprimento de raízes</b>			
Fenofases	Ambientes (n=20)		Geral (n=40)
	Encosta	Planície	
1	0,237 <sup>ns</sup>	0,039 <sup>ns</sup>	0,278 <sup>ns</sup>
2	-0,067 <sup>ns</sup>	-0,008 <sup>ns</sup>	-0,046 <sup>ns</sup>
3	0,662 <sup>**</sup>	0,201 <sup>ns</sup>	0,459 <sup>**</sup>
4	0,486 <sup>*</sup>	0,625 <sup>**</sup>	0,489 <sup>**</sup>
Geral (n=80)	0,455 <sup>**</sup>	0,316 <sup>**</sup>	

\* = significativo a 5%, \*\* = significativo a 1%, <sup>ns</sup> = não significativo a 5%. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Com relação ao número de raízes formadas por estaca, somente a fenofase 2 não apresentou coeficientes significativos, indicando que a permanência das folhas originais não possui relação com a indução de um maior número de raízes nessa época, entretanto nessa fenofase são encontrados os maiores resultados para o número de raízes por estacas (Tabela 1.8), indicando que auxinas e cofatores presentes na base da estaca foram suficientes para indução do valor ótimo para essa variável no presente estudo. Entretanto, nas demais fenofases, o efeito da manutenção das folhas foi comprovada pela presença de coeficientes positivos e significativos.

Para a variável comprimento médio das três maiores raízes por estaca, a influência das folhas, durante o período no leito de enraizamento, ocorreu principalmente nas fenofases 3 e 4, indicando novamente a importância da manutenção das folhas no transporte de substâncias para a base das estacas em épocas de baixa atividade vegetativa. Em contrapartida, sua

manutenção em épocas com alta formação de brotações foliares não otimizou o crescimento das raízes adventícias. Segundo Carvalho *et al.* (2007) a manutenção de meia folha no ápice da estaca de maracujá amarelo, permite a produção de maior número e massa seca de raízes. Essa relação também foi observada por Biasi *et al.* (1997), trabalhando com estaquia de videira, os quais relataram que a presença de folhas nas estacas é indispensável para o desenvolvimento do sistema radicial.

Considerando os resultados da porcentagem de retenção foliar, pode-se concluir que a permanência das folhas, possivelmente, está relacionada às temperaturas que as matrizes estão submetidas no campo, ou seja, épocas em que as temperaturas são mais elevadas favorecem a queda precoce das folhas no leito de enraizamento. A manutenção foliar durante o processo de enraizamento favorece a formação do sistema radicial adventício, sendo essa influência mais evidente em épocas com menor atividade vegetativa das matrizes. Adicionalmente, entre as variáveis relacionadas ao enraizamento, ou seja, porcentagem de enraizamento, número e comprimento das raízes formadas, as maiores relações ocorrem com a porcentagem de enraizamento.

### 3.3.1.6. Porcentagem de estacas enraizadas com formação de calos

A porcentagem de estacas enraizadas com formação de calos simultânea apresenta independência entre os fatores, indicado pela interação não significativa exibida na Tabela 1.19. Dentre os fatores analisados somente os ambientes apresentaram efeito significativo sobre a variável.

TABELA 1.19 - Análise de variância (teste F) para porcentagens de estacas enraizadas com formação de calos de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio
Fenofases (A)	3	878,497 <sup>ns</sup>
Ambientes (B)	1	6477,025 <sup>**</sup>
Interação AxB	3	259,874 <sup>ns</sup>
Erro	152	603,913
Total	159	
Coeficiente de variação (%)		32,55
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		3,253 <sup>ns</sup>

\*\*= significativo a 1%; <sup>ns</sup> = não significativo a 5%

Mesmo que a análise de variância tenha indicado efeito significativo dos ambientes sobre a variável porcentagem de estacas enraizadas com formação de calos simultânea, o teste de comparação de médias (Tabela 1.20) não detectou diferença entre os ambientes, isso ocorre devido ao teste de Tukey apresentar maior rigidez com relação a outros testes de comparação de médias. Assim nenhum dos fatores analisados apresenta influência sobre a variável em questão, entretanto, quando é realizada uma análise de correlação entre esta variável e porcentagem de enraizamento, número de raízes e comprimento radicial, algumas relações podem ser observadas.

TABELA 1.20 - Porcentagens de estacas enraizadas com formação de calos de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	68,0	79,5	73,8
2	65,3	84,1	74,7
3	64,3	78,2	71,3
4	78,9	85,5	82,2
Médias	69,1 A	81,9 A	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Os resultados obtidos pelas correlações de *Pearson* (Tabela 1.21), que testaram o grau de associação entre a presença de calos na base das estacas enraizadas e as variáveis porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca e comprimento médio das três maiores raízes por estaca, indicam que nas fenofases 1 e 2, a formação e desenvolvimento das raízes são independentes da formação antecipada de calos, devido aos baixos coeficientes de correlação, os quais na maioria das condições testadas, não são significativos, indicando que o processo de diferenciação e desenvolvimento das raízes adventícias não é relacionado com a formação de calos na base das estacas.

Na fenofase 1 e 2, possivelmente a quantidade de auxinas é maior, devido à presença de brotações jovens, superando assim concentrações endógenas de citocininas e, conseqüentemente, ocorrendo preferencialmente a diferenciação de células meristemáticas em primórdios radiciais. Hartmann *et al.* (2011), relatam que um tecido meristemático pode formar distintas diferenciações, dependendo do balanço hormonal entre auxinas e citocininas, sendo que a formação de primórdios radiciais é favorecida pela maior proporção de auxinas em relação à de citocininas; quando o balanço é intermediário, só ocorre a formação de tecido caloso e; quando a concentração de auxinas é baixa, o tecido se diferencia em gemas foliares.

TABELA 1.21 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre a porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes por estaca e a formação de calos em estacas enraizadas, para *Psychotria nuda*.

<b>Enraizadas</b>			
Fenofases	Ambientes (n=20)		Geral (n=40)
	Encosta	Planície	
1	0,139 <sup>ns</sup>	0,396 <sup>ns</sup>	0,317 <sup>*</sup>
2	-0,163 <sup>ns</sup>	0,462 <sup>*</sup>	0,085 <sup>ns</sup>
3	0,791 <sup>**</sup>	0,829 <sup>**</sup>	0,817 <sup>**</sup>
4	0,535 <sup>*</sup>	0,842 <sup>**</sup>	0,690 <sup>**</sup>
Geral (n=80)	0,646 <sup>**</sup>	0,807 <sup>**</sup>	
<b>Nº de raízes</b>			
Fenofases	Ambientes (n=20)		Geral (n=40)
	Encosta	Planície	
1	0,188 <sup>ns</sup>	-0,063 <sup>ns</sup>	0,152 <sup>ns</sup>
2	-0,536 <sup>*</sup>	0,002 <sup>ns</sup>	-0,355 <sup>*</sup>
3	0,519 <sup>*</sup>	0,479 <sup>*</sup>	0,464 <sup>**</sup>
4	-0,072 <sup>ns</sup>	0,445 <sup>*</sup>	0,168 <sup>ns</sup>
Geral (n=80)	0,273 <sup>*</sup>	0,433 <sup>**</sup>	
<b>Comprimento de raízes</b>			
Fenofases	Ambientes (n=20)		Geral (n=40)
	Encosta	Planície	
1	0,183 <sup>ns</sup>	-0,082 <sup>ns</sup>	0,147 <sup>ns</sup>
2	-0,208 <sup>ns</sup>	0,411 <sup>ns</sup>	0,259 <sup>ns</sup>
3	0,550 <sup>*</sup>	0,128 <sup>ns</sup>	0,360 <sup>*</sup>
4	0,187 <sup>ns</sup>	0,689 <sup>**</sup>	0,418 <sup>**</sup>
Geral (n=80)	0,427 <sup>**</sup>	0,485 <sup>**</sup>	

\* = significativo a 5%, \*\*= significativo a 1%, <sup>ns</sup> = não significativo a 5%. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Já nas fenofases 3 e 4, as correlações foram significativas e positivas na maioria das condições testadas, indicando que a formação de raízes é antecipada pela formação de calos nessas fenofases. Entretanto, pode-se observar que os maiores coeficientes de correlação foram obtidos para a variável porcentagem de estacas enraizadas; porém, para o número e comprimento das raízes formadas os coeficientes significativos foram baixos, ou sem significância. Como nas fenofases 3 e 4 as matrizes não possuíam brotações jovens ou com pequeno desenvolvimento das mesmas, provavelmente a concentração endógena de auxinas não foi suficiente para diferenciar os tecidos meristemáticos em raízes em um primeiro momento, ocorrendo primeiramente à formação de calos. Com o passar do tempo no leito de enraizamento, possivelmente ocorreu o transporte de auxinas contidas nas folhas até a base da estaca, acarretou seu acúmulo e, com isso, provavelmente nesse momento, a concentração de auxinas aumentou em relação à de citocininas, fazendo com que houvesse a diferenciação dos

primórdios radiciais. Essa hipótese pode ser confirmada pelo menor comprimento das raízes formadas nas fenofases 3 e 4, indicando que a iniciação das raízes ocorreu tardiamente em relação às fenofases 1 e 2 (Tabela 1.8), além da maior porcentagem de estacas somente com o desenvolvimento de calos nessas fenofases (Tabela 1.6).

Essa resposta enfatiza a necessidade da manutenção das folhas durante o período de enraizamento, principalmente nas fenofases em que as matrizes apresentam baixa atividade vegetativa. As folhas possuem papel fundamental no enraizamento de estacas, uma vez que fornecem auxinas e cofatores do enraizamento, entre outras substâncias, estimulando a atividade meristemática e diferenciação celular (PAIVA; GOMES, 1995; HARTMANN *et al.*, 2011)

### **3.3.2. Variáveis nutricionais**

Nesse tópico estão apresentados os resultados do perfil nutricional de *Psychotria nuda*, o qual engloba a concentração e conteúdo de macro e micronutrientes, além da eficiência de conversão para cada nutriente. Os resultados estão apresentados em cada condição testada, ou seja, ambientes de desenvolvimento das plantas matrizes e fenofases.

Os resultados da concentração de macro e micronutrientes foram utilizados para comparações com os resultados obtidos para outras espécies na literatura. Para comparar as condições testadas no presente trabalho (fenofases e ambientes), foram utilizados os valores de conteúdo, calculados com base na matéria seca de 100 folhas, evitando assim o efeito de diluição e concentração.

Por ser um trabalho pioneiro com relação à análise nutricional de *Psychotria nuda*, as concentrações obtidas foram comparados com resultados de espécies da mesma família botânica da *Psychotria nuda* (Rubiaceae), ou com espécies nativas em diferentes ambientes.

#### **3.3.2.1. Matéria seca de 100 folhas**

Para a matéria seca de 100 folhas, a análise estatística indicou ausência de interação entre os fatores ambientes de coleta e fenofases, demonstrando assim, a independência entre os mesmos. Entretanto os fatores isoladamente apresentam efeitos significativos sobre a variável (Tabela 1.22).

TABELA 1.22 - Análise de variância (teste F) para a matéria seca de 100 folhas de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio
Fenofases (A)	3	62,023 <sup>**</sup>
Ambientes (B)	1	104,377 <sup>**</sup>
Interação AxB	3	13,036 <sup>ns</sup>
Erro	152	7,231
Total	159	
Coeficiente de variação (%)		18,15
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		1,888 <sup>ns</sup>

Na Tabela 1.23 encontram-se os valores para a massa seca de 100 folhas, em cada ambiente e em cada fenofase. Para essa variável o teste de Tukey não indicou diferenças estatísticas entre os ambientes de coleta, mesmo que a análise de variância tenha indicado efeito significativo desse fator (Tabela 1.22). Considerando os resultados numericamente, a encosta apresentou maior valor, indicando que tal ambiente apresenta, possivelmente, pequena superioridade nas condições para a produção de biomassa foliar. Radomski (1998), trabalhando com *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss em diferentes ambientes, também não verificou diferenças estatísticas para a massa de 100 folhas entre eles.

TABELA 1.23 - Matéria seca de 100 folhas, em gramas, de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	15,06	15,02	15,04 ab
2	17,33	14,79	16,06 a
3	15,82	14,31	15,07 ab
4	14,27	11,90	13,09 b
Médias	15,62 A	14,01 A	

Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

O maior valor foi obtido na fenofase 2, diferindo estatisticamente somente da fenofase 4. A principal diferença das matrizes entre as duas fenofases é com relação ao crescimento vegetativo, sendo que matrizes na fenofase 2 estavam no final do ciclo vegetativo, enquanto a fenofase 4 é caracterizada pelo início da formação das brotações foliares. Esse fato pode ter influenciado a matéria seca de 100 folhas, possivelmente, no início do crescimento vegetativo,



as matrizes ainda apresentavam uma taxa fotossintética menor e consequentemente uma menor produção de biomassa.

A fenofase 4 coincide com o aumento de fotoperíodo, temperatura e pluviosidade (Anexo 5 e 6); assim, com melhores condições ambientais, a espécie inicia a produção de biomassa. Consequentemente ao final no crescimento vegetativo (fenofase 2) a espécie apresenta o máximo de produção vegetativa. Segundo Van Schaik *et al.* (1993), a produtividade das plantas é potencialmente limitada por um conjunto de fatores abióticos como água, luz e minerais, fazendo com que as espécies apresentem máxima produção em determinado período, evitando a emissão de folhas novas durante épocas desfavoráveis.

### 3.3.2.2. Concentração de macronutrientes

A análise de variância (Tabela 1.24) revelou que para N, K, P e Ca a interação entre os fatores ambientes de coleta e fenofases foi estatisticamente significativa, indicando que estes fatores não são independentes. Para o Mg os fatores são independentes pois a interação não foi significativa. Sendo assim, a concentração da maioria dos macronutrientes, para *Psychotria nuda*, varia em cada fenofase e essa variação é influenciada pelo ambiente de desenvolvimento em que a matriz se encontra.

TABELA 1.24 - Análise de variância (teste F) para concentração de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio				
		N	K	P	Ca	Mg
Fenofases (A)	3	6,972 <sup>*</sup>	101,891 <sup>**</sup>	0,654 <sup>**</sup>	200,797 <sup>**</sup>	1,059 <sup>ns</sup>
Ambientes (B)	1	103,041 <sup>**</sup>	10,671 <sup>*</sup>	0,239 <sup>**</sup>	0,2.10 <sup>-4ns</sup>	4,827 <sup>**</sup>
Interação AxB	3	18,382 <sup>**</sup>	38,595 <sup>**</sup>	0,054 <sup>**</sup>	47,982 <sup>**</sup>	0,401 <sup>ns</sup>
Erro	152	2,195	2,329	0,004	2,235	0,688
Total	159					
Coefficiente de variação (%)		5,07	20,33	8,07	13,93	11,26
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		8,605 <sup>ns</sup>	11,132 <sup>ns</sup>	5,363 <sup>ns</sup>	3,481 <sup>ns</sup>	8,190 <sup>ns</sup>

\* = significativo a 5%; \*\* = significativo a 1%; <sup>ns</sup> = não significativo a 5%

De acordo com a média geral da concentração de macronutrientes, ou seja, desconsiderando os valores individuais de cada condição avaliada, *Psychotria nuda* apresenta a seguinte sequência decrescente de concentração: N>Ca>K>Mg>P.

Com base na Tabela 1.25, foi verificado que o N é o macronutriente que existe em maior concentração. Esse elemento é requerido em grandes quantidades, visto que é essencial para formação de compostos orgânicos, como aminoácidos e ácidos nucleicos, além de ser essencial em muitos outros componentes celulares (SOUZA; FERNANDES, 2006). Dentre todos os macronutrientes, o P foi que apresentou os menores teores, independentemente das fenofases e dos ambientes de coleta. Essa resposta é comum em espécies arbóreas nativas, onde dentre os macronutrientes o P apresenta as menores concentrações, como os resultados obtidos por Radomski (1998), trabalhando com *Maytenus iliciolia* Mart. e por Moraes e Domingos (1997) em espécies nativas da Floresta Ombrófila Densa atlântica.

TABELA 1.25 - Concentração foliar média de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio, em g/kg, de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

<b>Nitrogênio (N)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	28,84 B ab	30,08 A a	29,46
2	27,48 B c	29,88 A a	28,68
3	29,69 A a	29,56 A a	29,63
4	27,68 B bc	30,60 A a	29,14
Médias	28,42	30,03	
<b>Potássio (K)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	5,81 A b	6,24 A b	6,03
2	5,86 B b	8,03 A a	6,94
3	6,46 B b	8,14 A a	7,30
4	10,87 A a	8,66 B a	9,76
Médias	7,25	7,77	
<b>Fósforo (P)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	0,84 B a	0,95 A a	0,90
2	0,66 B b	0,79 A c	0,72
3	0,57 B c	0,67 A d	0,62
4	0,88 A a	0,85 A b	0,87
Médias	0,73	0,82	
<b>Cálcio (Ca)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	10,46 A b	10,84 A b	10,65
2	13,64 A a	12,25 B a	12,94
3	6,22 B c	9,15 A b	7,69
4	12,63 A a	10,71 B b	11,67
Médias	10,74	10,74	
<b>Magnésio (Mg)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	7,43	7,38	7,40
2	7,44	6,98	7,21
3	7,81	7,36	7,58
4	7,50	7,07	7,28
Médias	7,54 A	7,20 A	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Ainda que o N apresente importância fundamental na formação estrutural como parte de compostos orgânicos, sua concentração no tecido vegetal pode, nem sempre, ser a maior entre os demais macronutrientes. Radomski (1998), trabalhando com *Maytenus iliciolia*, obteve concentração maior de K em relação ao N. A maior concentração de N entre os nutrientes é comumente observada (BOEGER *et al.*, 2005; HARIDASAN; ARAÚJO, 2005; TÉO *et al.*, 2010; BRUN *et al.*, 2012). Adicionalmente, pode-se inferir que o maior teor de N em relação os demais elementos, encontrados em todas as condições testadas do presente trabalho, pode estar associada a interações não patogênicas com bactérias diazotróficas, as quais foram isoladas em folhas do gênero *Psychotria* (LERSTEN; HORNER, 1967; VAN OEVELEN *et al.*, 2002). Entretanto, para algumas espécies do gênero, como para *Psychotria carthagenensis* Jacq., essa associação não foi observada (VITARELLI; SANTOS, 2009).

Dentre os demais macronutrientes, os teores variam dependendo dos fatores testados, onde Ca apresenta, na maioria dos casos, a segunda maior concentração. Já as maiores variações de posição dentro da sequência de concentrações ocorrem entre K e Mg.

Os teores de Ca obtidos para *Psychotria nuda*, coparado a diferentes espécies, estão entre os maiores valores relatados por Vitousek e Stanford (1986), além de superarem os teores médios obtidos por Thompson *et al.* (1991) e Boeger *et al.* (2005), na maioria das condições testadas, sendo todos os estudos citados realizados em florestas tropicais. Elevadas concentrações foliares de Ca podem ser resultante da grande quantidade de cristais de oxalato de cálcio encontrado nos tecidos foliares (BOEGER; WISNIEWSKI, 2003).

Para o gênero *Psychotria* é comum a ocorrência de cristais de oxalato de cálcio em todas as partes da planta (QUINTEIRO *et al.*, 2006). Por meio de estudo anatômico, foi verificada a presença de oxalato de cálcio na forma de cristais prismáticos, estiloides e areias cristalinas nas folhas de *Psychotria nuda*, na presente pesquisa. Os cristais de oxalato de cálcio são formados a partir do ácido oxálico sintetizado endogenamente e o Ca absorvido da solução do solo, sendo produtos do metabolismo das plantas, cuja função está relacionada como regulação do cálcio, na manutenção do equilíbrio iônico, na proteção contra o ataque de herbívoros e até mesmo de captação de luz e de reflexão (VOLK *et al.*, 2002; FRANCESCHI; NAKATA, 2005).

Molano-Flores (2001) relata que cristais de oxalato de cálcio possuem papel ecológico, como mecanismo de defesa, e fisiológico na acumulação de excesso de Ca. Em estudo sobre herbivoria e concentrações de Ca na formação de cristais de oxalato de cálcio em folhas de *Sida rhombifolia* L., os mesmos autores demonstraram que tanto a disponibilidade de Ca como a herbivoria aumenta a produção de cristais. Adicionalmente os autores

demonstram que um aumento na produção de cristais de oxalato de cálcio, como resultado de herbivoria, ocorre mesmo se a disponibilidade de Ca é limitada.

Em um trabalho de revisão sobre cristais de oxalato de cálcio em plantas, Franceschi e Nakata (2005) relatam que cristais estiloides e ráfides são, com mais frequência, associados à defesa física contra herbivoria. Entretanto, os mesmos autores, afirmam que não só o formato e o tamanho dos cristais são responsáveis pela função de defesa, o posicionamento e o grande número de cristais podem mudar a palatabilidade da planta. Molano-Flores (2001) também sugerem que além das ráfides, outros cristais podem servir de defesa devido à presença de grandes quantidades dessa estrutura nas plantas. Na presente pesquisa, por meio de estudos anatômicos, foi verificada presença de grande quantidade de cristais prismáticos, sugerindo assim, que possivelmente a presença dessas estruturas está associada a mecanismos de defesa física, uma vez que foi verificado visualmente, a campo, folhas e caules com presença de ataque de herbívoros, sendo mais evidente em folhas maduras e na fenofase 1 (final da primavera).

Silva (2002) estudando a taxa de herbivoria em *Psidium cattleyanum* Sab. em áreas de restinga e de floresta ombrofila densa relatou que, em ambas as procedências, ocorreram maior atividade dos insetos nas estações primavera e inverno, justificando esse resultado pelo o aumento de temperatura ocorrido nas estações verão e outono com consequente menor atividade dos herbívoros. A preferência por folhas maduras foi verificada por Eutrópio e Silva (2009), os quais estudaram herbivoria em folhas jovens e adultas para o gênero *Croton* sp.

Adicionalmente, a alta concentração de Ca, possivelmente, está relacionada à mobilidade do nutriente nos tecidos vegetais, a qual é classificada como baixa, e quanto mais antiga a folha, espera-se que a concentração de Ca seja maior, pois o elemento é imobilizado na forma de pectatos de cálcio nos espessamentos secundários da parede celular (REICH *et al.*, 1995; FRANCESCHI; NAKATA, 2005).

*Coffea arabica*, em estudo realizado por Martinez *et al.* (2003) sobre faixas críticas de concentração de nutrientes, apresentou teores médios de 26 g/kg de N, 1,5 g/kg de P, 25 g/kg de K, 11 g/kg de Ca e 4 g/kg de Mg. Comparando estes resultados, além dos teores descritos por Malavolta (2006) para *Coffea arabica*, com os teores médios apresentados na Tabela 1.25, verifica-se que as concentrações de K e P estão abaixo das concentrações mínimas observadas, já os teores de Mg apresentam valores superiores e N e Ca encontram-se dentro de níveis relatados.

Relacionando as concentrações de macronutrientes obtidas com os teores considerados críticos para distinguir valores deficientes ou excessivos para *Coffea arabica*, pode-se

verificar níveis críticos de P e K para *Psychotria nuda*, uma vez que os valores são inferiores a 1g/kg e 14 g/kg respectivamente, e as concentrações foliares de Mg são consideradas excessivas pois superam o valor de 3,9 g/kg (MALAVOLTA *et al.*, 1993). As concentrações consideradas deficientes ou altas são observadas independentes do ambiente de coleta ou das fenofases que se encontravam as plantas matrizes.

Entretanto quando se compara as concentrações obtidas para *Psychotria nuda* com espécies florestais tropicais verifica-se que os teores de P e K não são considerados deficientes. Para P as concentrações obtidas estão dentro das faixas consideradas baixas para a maioria das espécies estudadas por Drechsel e Zech (1991), mas na média estão acima dos teores classificados como deficientes. Os mesmos autores obtiveram valores de concentrações de K acima dos classificados como deficientes pra espécies arbóreas tropicais.

E comparando as concentrações de P e K de *Psychotria nuda* com espécies do mesmo grupo ecológico, foram observados teores semelhantes desses nutrientes, como para *Hymenaea courbaril* L., a qual apresentou 0,92 g/kg de P e 9,21 g/kg de K (RESENDE *et al.*, 2000). Segundo os mesmos autores, espécies clímax são menos afetadas pelos níveis de disponibilidade de fósforo no solo, devido ao menor crescimento e produção de biomassa. Essa relação também foi verificada por Resende *et al.* (1999), estudando a resposta a doses de fósforo em espécies florestais de diferentes grupos sucessionais; os autores relataram que mudas das espécies clímax são pouco afetadas pelo fornecimento de P, o que caracteriza um baixo requerimento do nutriente pelas mesmas.

Adicionalmente, em estudo sobre o estabelecimento de espécies florestais nativas em área de restauração ciliar, Aragão (2009) relata que as espécies clímax, comparadas às pioneiras, mostram crescimento pouco influenciado pelo nível de fertilidade do solo, o que poderia ser indicativo de uma maior adaptação a solos pouco férteis. Marschner (1991) relata que plantas adaptadas aos solos de baixa fertilidade apresentam, em geral, altas concentrações de P, Ca ou Mg na parte aérea, como estratégia para evitar o estresse nutricional. Esta adaptação, no entanto, não é caracterizada por uma alta eficiência de absorção, sendo os elevados teores de nutrientes na biomassa função de suas lentas taxas de crescimento, mesmo quando o suprimento nutricional é aumentado.

Os ambientes de desenvolvimento das plantas matrizes de *Psychotria nuda* apresentam efeito significativo sobre a concentração dos macronutrientes (Tabela 1.24). Para N e P, a planície apresentou matrizes com as maiores concentrações foliares, sendo os valores estatisticamente superiores aos obtidos na encosta, na maioria das fenofases (Tabela 1.25).

Em todas as condições testadas a concentração de N apresentou valores superiores à média apresentada por Vitousek e Stanford (1986), em estudo nutricional sobre 18 florestas tropicais, os quais obtiveram 10,2 g/kg. Entretanto, o teor de N descrito por Moraes e Domingos (1997), para a Floresta Ombrófila Densa no litoral de São Paulo, foram semelhantes aos obtidos para *Psychotria nuda*.

Os valores obtidos para a concentração de P, os quais apresentaram mínimo de 0,57 g/kg e máximo de 0,95 g/kg, estão dentro dos teores médios obtidos para outras florestas tropicais (VITOUSEK; STANFORD, 1986). Entretanto, concentrações abaixo das médias citadas pelos autores são encontradas em estudos nutricionais de espécies das florestas tropicais. Boeger *et al.* (2005), estudando a nutrição foliar de espécies arbóreas em três estádios sucessionais da Floresta Ombrófila Densa atlântica, obtiveram concentrações de P variando de 0,14 g/kg a 0,32 g/kg. Segundo Thompson *et al.* (1991), o P ocorre quase sempre em baixo suprimento nas florestas tropicais, devido ao alto intemperismo dos solos e aos processos de imobilização deste nutriente no solo.

Estudos com espécies arbóreas nativas têm evidenciado concentrações foliares baixas de P, como são os casos de povoamentos naturais de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) (REISSMANN *et al.*, 1983) e de espécies pertencentes à Floresta Ombrófila Densa (BRITEZ, 1994; MORAES; DOMINGOS, 1997; BOEGER *et al.*, 2005). Estes baixos teores, no entanto, não significam necessariamente uma deficiência do nutriente, podendo ser uma característica de espécies adaptadas ao uso dos recursos disponíveis, ou de uma melhor eficiência de utilização metabólica do P (ARAÚJO; MACHADO, 2006). Reissmann *et al.* (1997) consideram que a demanda de P para espécies arbóreas nativas é menor quando comparado a espécies agrícolas.

O comportamento das concentrações de K obtidas frente aos fatores testados apresentam semelhanças ao relatado anteriormente; ou seja, a planície apresentou melhores condições para o suprimento desse nutriente, entretanto na fenofase 4, época caracterizada pelo início do crescimento vegetativo e baixa atividade reprodutiva, a encosta supera o ambiente planície. Os teores obtidos são considerados deficientes quando comparado aos valores críticos para *Coffea arábica* (MALAVOLTA *et al.*, 1993). Contudo comparando os valores aos encontrados em espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa em estágio avançado de sucessão, localizada no litoral paranaense, os teores foliares obtidos para *Psychotria nuda* são superiores a todas as concentrações das espécies estudadas (Boeger *et al.*, 2005).

No ambiente encosta as matrizes apresentaram teores de Ca superiores ou iguais estatisticamente à planície, porém na fenofase 3 a planície mostrou-se superior em relação a encosta.

Com o cálculo da relação K/Ca obtidas, considerando as médias das fenofases, pode-se verificar um aumento da relação em épocas de menor atividade vegetativa, ou seja, nas fenofases 3 (0,95) e 4 (0,84) em relação às fenofases com presença de grande quantidade de brotações foliares, sendo elas a fenofase 1 (0,57) e fenofase 2 (0,54). Para a razão K/Mg os valores obtidos apresentam comportamento semelhante à da relação K/Ca, entretanto com menor variação entre as fenofases, onde as fenofases 3 (0,96) e 4 (1,34) apresentam valores maiores que as fenofases 1 (0,81) e 2 (0,95). Os valores obtidos são considerados baixos, baseada nas razões consideradas adequadas para *Coffea arabica*, em plantas com bom estado nutricional (MALAVOLTA *et al.*, 1993). No entanto, esta razão é definida para uma espécie cultivada que demanda maior suprimento de nutrientes. Para espécies localizadas em comunidades nativas da Floresta Ombrófila Densa, Boeger *et al.* (2005) encontraram razões de K/Ca que variaram entre 0,38 a 0,89 e razões K/Mg variando de 0,7 a 1,84.

Autores relatam que existem variações entre espécies, evidenciando comportamento diferenciado frente ao processo de absorção, metabolismo e perdas de nutrientes (BREEMEN, 1995; BOEGER *et al.* 2005). Essa variação pode ser observada dentro de uma mesma família botânica, uma vez que *Amaioa guianensis* Aubl., pertencente à mesma família botânica da *Psychotria nuda*, apresentou razão K/Ca de 1,10, sendo a espécie localizada em comunidade semelhante à do presente trabalho (BOEGER *et al.* 2005).

Para a concentração de Mg a análise de variância (Tabela 1.24) revelou que somente ao ambientes apresentaram efeito significativo, entretanto o teste de comparação de médias não revelou diferenças estatísticas entre as médias. Sendo assim, para o teor de Mg, nenhum dos fatores testados mostrou efeito estatisticamente significativo, porém, numericamente, a encosta apresentou valor ligeiramente maior que a planície. Radomski (1998), trabalhando com *Maytenus iliciolia* Mart, não obteve diferença nas concentrações foliares de Mg em matrizes localizadas em diferentes ambientes de desenvolvimento. E a pequena variação na concentração de Mg entre diferentes épocas de coleta também foi observada por Reissmann *et al.* (1985) em estudo sobre a variação dos macronutrientes nas folhas de *Ilex paraguariensis* em Mandirituba-PR.

Confrontando os resultados obtidos para os teores de Mg com trabalhos realizados em florestas tropicais, verifica-se que as concentrações obtidas no presente trabalho superam o máximo obtido nesses estudos (VITOUSEK; STANFORD, 1986; THOMPSON *et al.*, 1991;



MORAES; DOMINGOS, 1997; BOEGER *et al.*, 2005). Boeger *et al.* (2005) relatam que altas concentrações de Mg nas folhas é decorrente possivelmente do teor elevado desse nutriente no solo, principalmente na parte mais superficial do horizonte A e nos horizontes orgânicos.

Por meio de análise de correlação linear (Anexo 15) verificou-se relação entre os teores de Mg com os de K, onde o aumento da concentração foliar de um elemento resulta na diminuição do outro. Essa resposta ocorre possivelmente pela inibição competitiva entre esses elementos. Duboc *et al.* (1996), em experimento com omissão de nutrientes em *Hymenaea courbaril*, relatam que o teor de Mg na matéria seca da parte aérea aumentou em tratamentos com omissão de K.

O efeito das fenofases sobre as concentrações dos macronutrientes foliares de *Psychotria nuda* é observado na maioria dos nutrientes, sendo esse efeito diferente dependendo do ambiente de desenvolvimento das matrizes (Tabela 1.24). Somente para a concentração de Mg as fenofases não apresentaram efeito significativo (Tabela 1.25).

Para a concentração de N somente na encosta houve diferenças estatísticas entre as fenofases, sendo a maior concentração obtida na fenofase 3, valor que diferiu estatisticamente das fenofases 2 e 4. Observando as condições climáticas em cada época (Anexo 5) foi possível verificar alta pluviosidade nos meses que antecederam a fenofase 2, essa resposta sazonal foi verificada por Moraes e Domingos (1997), os quais obtiveram maiores concentrações de N em épocas com menor pluviosidade.

Considerando as médias gerais das fenofases, as razões de P/N calculadas variaram de 0,02 a 0,03, os valores obtidos estão abaixo da razão obtida por Thompson *et al.* (1991) (0,063), e por Moraes e Domingos (1997) (0,032), segundo estes autores os valores são considerados baixos, indicando pequena disponibilidade de P nos ambientes de estudo. Para *Psychotria nuda* não foi verificada correlação entre P e N (Anexo 15), esse resultado reforça os comentários de Thompson *et al.* (1991), que consideram a utilização do valor da razão P/N limitado como indicador do suprimento de P, sendo essa informação também enfatizada por Moraes e Domingos (1997).

### 3.3.2.3. Concentração de micronutrientes

A Tabela 1.26 apresenta a análise de variância para a concentração foliar de micronutrientes de *Psychotria nuda*, onde se observa interação significativa entre os fatores, indicando efeitos dependentes para os teores foliares de Zn e Mn. Já para os nutrientes B e Fe

não houve interação entre os referidos fatores, indicando que os mesmos apresentam efeitos independentes sobre a concentração desses elementos.

Devido a grande quantidade de valores nulos para a concentração de Cu não foi possível à realização da análise estatística dos dados, entretanto, considerando os valores numericamente, constatou-se comportamento semelhante ao Fe, onde a encosta apresenta a maior média geral.

TABELA 1.26 - Análise de variância (teste F) para concentração de boro, zinco, ferro e manganês de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio			
		B	Zn	Fe	Mn
Fenofases (A)	3	539,168**	617,675**	34860,728**	10633,538 <sup>ns</sup>
Ambientes (B)	1	1296,979**	220,571**	161,022 <sup>ns</sup>	139126,740**
Interação AxB	3	54,426 <sup>ns</sup>	45,858**	242,697 <sup>ns</sup>	228815,157**
Erro	152	26,259	8,526	228,890	18129,734
Total	159				
Coeficiente de variação (%)		23,86	17,79	17,12	26,86
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		6,839 <sup>ns</sup>	11,644 <sup>ns</sup>	11,367 <sup>ns</sup>	12,764 <sup>ns</sup>

\* = significativo a 5%; \*\* = significativo a 1%; <sup>ns</sup> = não significativo a 5%

Considerando todos os micronutrientes a *Psychotria nuda* apresenta a seguinte sequencia decrescente de concentrações: Mn>Fe>B>Zn>Cu (Tabela 1.27). Essa sequencia ocorre na grande maioria das condições testadas, somente no ambiente planície na fenofase 4, a concentração de Zn supera a de B. Comparando esse resultado com as sequencias de macronutrientes observa-se menor variação na sequencia de concentração dos micronutrientes nas diferentes condições testadas. A sequencia obtida também foi encontrada por Boeger *et al.* (2005) em três estádios sucessionais da Floresta Ombrófila Densa, excluindo a concentração de B, o qual não foi quantificado pelos autores.

Comparando os resultados obtidos, em todas as condições estudadas, com as concentrações de micronutrientes em *Coffea arabica*, espécie pertencente à família Rubiaceae (MARTINEZ *et al.*, 2003), verifica-se que os teores de Zn e Fe são semelhantes aos obtidos pelos autores, já o B apresentou concentrações abaixo dos valores mínimos encontrados, e as concentrações de Mn são superiores as concentrações máximas descritas, com relação ao Cu os teores obtidos estão dentro ou abaixo dos valores relatados, variando dependendo do tipo de ambiente de coleta e das fenofases analisadas.

As concentrações adequadas de micronutrientes, relatadas em trabalhos com *Coffea arabica*, variam de 12 a 20 mg/kg para o Zn, de 110 a 300 mg/kg para o Fe, de 60 a 80 mg/kg

para o B, de 100 a 200 mg/kg para o Mn e de 10 a 15 mg/kg de Cu (MALAVOLTA, 2006). Confrontando as concentrações obtidas para *Psychotria nuda* com os valores críticos para caracterizar deficiência ou excesso de micronutrientes descritos por Malavolta *et al.* (1993) para *Coffea arabica*, foi observado que as concentrações de Mn, em todas as condições estudadas, são consideradas excessivas, pois superam a concentração foliar de 300 mg/kg, já o Cu apresenta, em determinadas situações avaliadas, concentrações consideradas deficientes, uma vez que são inferiores ao valor crítico de 5 mg/kg, as concentrações abaixo desse valor foram obtidas principalmente na fenofase 2, época em que as matrizes apresentavam alta atividade vegetativa, com presença de brotações jovens, e reprodutiva com desenvolvimento de brotações florais, flores e frutos, sendo esses dois últimos em maior quantidade em relação as demais fenofases.

Em estudos sobre o perfil nutricional de espécies lenhosas nativas localizadas em dois tipos de solos, os quais apresentam características distintas de distrofia, sendo um classificado como eutrófico e outro como distrófico, Haridasan e Araújo (2005) obtiveram concentrações elevadas de Mn nas matrizes localizadas em solos distróficos, sendo que 33 espécies apresentaram valores acima de 300 mg/kg, com os maiores valores acima de 2.000 mg/kg incluindo *Coussarea contracta* (Walp.) pertencente a mesma família Rubiaceae, sendo considerada como acumuladores de Mn. O mesmo autor relata que a toxicidade de Mn em plantas que ocorrem em comunidades nativas, pode não ser verificada em solos ácidos e distróficos, uma vez que, possivelmente, as mesmas sejam adaptadas a esses ambientes, sem prejudicar o crescimento e desenvolvimento.

Sendo assim, os altos teores de Mn obtidos para *Psychotria nuda*, considerados excessivos por Malavolta *et al.* (1993) para *Coffea arabica*, provavelmente não prejudica o desenvolvimento da espécie, uma vez que a mesma ocorre naturalmente em comunidades nativas onde os dois ambientes de desenvolvimento estudados são considerados distróficos.

Considerando estudos em comunidades nativas com características semelhantes as dos dois ambientes de desenvolvimento de *Psychotria nuda*, foi possível observar que as concentrações dos micronutrientes obtidas foram superiores, exceto para o Cu, comparando com os teores obtidos por Boeger *et al.* (2005) em estudo nutricionais de espécies da Floresta

Ombrófila Densa no litoral paranaense, entretanto Moraes e Domingos (1997), em estudos na mesma formação vegetacional no litoral de São Paulo, obtiveram concentrações maiores de micronutrientes comparadas aos descritos na presente pesquisa.

O efeito do ambiente de desenvolvimento sobre a concentração foliar de micronutrientes pode ser observado na maioria dos elementos (Tabela 1.27), para o B e Zn o ambiente encosta foi superior estatisticamente à planície. Somente para a concentração de Zn, na fenofase 2, os ambientes não possuem diferenças estatísticas. A superioridade da encosta para estes nutrientes é observada independente da fenofase que se encontravam as plantas matrizes.

Já o efeito dos ambientes no teor de Mn varia com as características fenológicas em cada época de coleta. Na Tabela 1.26 observa-se que o ambiente encosta mostra-se superior ou igual estatisticamente a planície, nas fenofases 3 e 4, épocas em que as matrizes apresentavam baixa atividade vegetativa, entretanto em épocas com alto crescimento vegetativo a planície apresenta condições mais favoráveis ao acúmulo foliar de Mn.

Para os teores de Fe a análise estatística não evidenciou efeito significativo dos ambientes de desenvolvimento, contudo numericamente verifica-se que a média geral da encosta foi maior do que o teor de Fe obtido na planície. Haridasan e Araújo (2005) também obtiveram pouca variação na concentração foliar Fe em espécies lenhosas localizadas em dois ambientes distintos de desenvolvimento.

TABELA 1.27 - Concentração foliar média de boro, zinco, ferro e manganês, em mg/kg, de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

<b>Boro (B)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	18,34	15,83	17,08 c
2	23,75	16,75	20,25 bc
3	28,41	22,94	25,67 a
4	26,81	19,00	22,91 ab
Médias	24,33 A	18,63 B	
<b>Zinco (Zn)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	17,91 A b	15,00 B b	16,46
2	12,23 A c	13,05 A b	12,64
3	16,53 A b	12,92 B b	14,72
4	23,67 A a	19,97 B a	21,82
Médias	17,59	15,24	
<b>Ferro (Fe)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	77,55	82,43	79,99 b
2	74,09	67,41	70,75 b
3	71,76	69,39	70,58 b
4	139,08	130,23	132,16 a
Médias	89,37	87,97	
<b>Manganês (Mn)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	459,93 B b	565,42 A a	512,68
2	381,38 B b	579,53 A a	480,46
3	452,27 A b	540,60 A ab	496,44
4	593,83 A a	437,75 B b	515,79
Médias	471,85	530,83	
<b>Cobre (Cu)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	5,65	8,69	7,17
2	2,24	0,20	1,22
3	10,41	0,79	5,6
4	8,69	7,99	8,34
Médias	6,75	4,42	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Com base nos dados de concentração dos micronutrientes apresentados na Tabela 1.27, pode-se verificar a influência das fenofases que se encontram as plantas matrizes sobre os teores dos nutrientes, sendo esse efeito dependente do ambiente de desenvolvimento, como para os teores de Zn e Mn, ou ocorrendo de forma isolada para o B e Fe (Tabela 1.26). E para o Cu, devido a não realização da análise estatística, esse efeito não pode ser confirmado.

Os teores foliares de Zn e Fe na fenofase 4 foram estatisticamente superiores às demais fenofase (Tabela 1.27), nessa época as matrizes encontravam-se no início do crescimento vegetativo, com ausência de flores e frutos maduros (Anexo 8 e 9). A concentração de B também mostrou comportamento semelhante, ou seja, os melhores valores foram obtidos em matrizes na fenofase 3 e 4, as quais não diferiram estatisticamente entre si. Entre estas épocas a maior concentração de B foi obtida em folhas coletadas de matrizes na fenofase 3, a qual diferiu das fenofases 1 e 2, épocas com a maior atividade vegetativa das matrizes, além da presença de brotações florais. A fenofase 3 é caracterizada por matrizes com ausência de brotações foliares, sendo considerada como a fenofase com a menor atividade vegetativa. A maior similaridade entre as épocas com a maior concentração de B, ou seja, fenofase 3 e 4, se deve a ausência de brotações florais e a baixa atividade vegetativa.

A maior concentração de Zn na fenofase 4 pode estar associada as condições climáticas, Moraes e Domingos (1997), obtiveram as maiores concentrações de Zn em épocas com menor pluviosidade, em estudos de espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa. Os meses anteriores à fenofase 4 (set/2010) apresentaram baixa precipitação (Anexo 5), concordando com os resultados obtidos pelos autores.

Com relação aos teores de Mn, o comportamento difere do apresentado anteriormente, para esse nutriente as mesmas fenofases apresentam resultados opostos dependendo do ambiente de desenvolvimento das plantas matrizes. A fenofase 4 apresentou os maiores teores de Mn em folhas de matrizes localizadas no ambiente encosta, valor significativamente superior as demais fenofases. Já no ambiente planície, as matrizes na fenofase 4 apresentam a menor concentração do elemento, valor que diferiu das fenofases 1 e 2.

Numericamente os menores teores de Cu ocorreram em folhas de matrizes nas fenofases 2 e 3, época com grande quantidade de flores e frutos maduros, estruturas ausentes ou em pequena quantidade nas fenofases 1 e 4, coincidindo com as maiores concentrações de Cu.

Comparando as concentrações foliares dos macro e micronutrientes com a massa seca em 100 folhas (Tabela 1.23) em cada condição testada, foi possível verificar efeito de concentração na maioria dos nutrientes, uma vez que as maiores concentrações foram obtidas em amostras com a menor massa seca de 100 folhas.

### 3.3.2.4. Conteúdo de macronutrientes

A Tabela 1.28 apresenta a análise de variância para o conteúdo foliar de macronutrientes de *Psychotria nuda*, podendo-se observar interação significativa entre os fatores para os macronutrientes K, P, Ca, Mg, indicando dependência entre os fatores. Para o N não houve interação entre os fatores, indicando que os mesmos apresentam efeitos independentes sobre a concentração desses elementos.

TABELA 1.28 - Análise de variância (teste F) para o conteúdo de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio				
		N	K	P	Ca	Mg
Fenofases (A)	3	0,048 <sup>**</sup>	0,010 <sup>**</sup>	1,2.10 <sup>-4**</sup>	0,060 <sup>**</sup>	0,003 <sup>**</sup>
Ambientes (B)	1	0,020 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>	6,3.10 <sup>-9ns</sup>	0,013 <sup>**</sup>	0,011 <sup>**</sup>
Interação AxB	3	0,008 <sup>ns</sup>	0,012 <sup>**</sup>	3,1.10 <sup>-5**</sup>	0,019 <sup>**</sup>	0,001 <sup>*</sup>
Erro	152	0,007	0,001	6,6.10 <sup>-6</sup>	0,002	0,0007
Total	159					
Coeficiente de variação (%)		18,71	23,47	19,72	25,09	19,44
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		2,450 <sup>ns</sup>	8,820 <sup>ns</sup>	8,734 <sup>ns</sup>	12,728 <sup>ns</sup>	9,744

\* = significativo a 5%; \*\*= significativo a 1%; <sup>ns</sup> = não significativo a 5%

Segundo a análise de variância somente as fenofases possuem efeito sobre o conteúdo de N, assim pode-se observar por meio do teste de comparação de médias que os maiores conteúdos foram obtidos nas fenofases 2 e 3, as quais diferem estatisticamente da fenofase 4

(Tabela 1.29). As fenofases 2 e 3 são caracterizadas pela maior atividade reprodutiva da espécie, com presença de flores e frutos maduros (Anexos 8 e 9).

O conteúdo de K de *Psychotria nuda* é influenciado pelos ambientes de desenvolvimento e pelas fenofases de forma dependente, e segundo o teste de comparação de médias (Tabela 1.29) verifica-se que os ambientes somente apresentaram diferenças estatísticas na fenofase 4, sendo a encosta estatisticamente superior à planície. Quando comparada as fenofases em cada ambiente, observa-se que apenas na encosta houve efeito significativo entre as épocas de coleta, sendo a fenofase 4 estatisticamente superior às demais.

O efeito dos ambientes para o conteúdo de P apresentou resposta igual ao conteúdo de K (Tabela 1.29), sendo que a encosta mostrou-se estatisticamente superior somente na fenofase 4. Já para o efeito das fenofases foi possível verificar que os menores conteúdos de P ocorrem em matrizes com menor atividade vegetativa, sendo o efeito variando com o tipo de ambiente. Na encosta o menor conteúdo de P foi obtido na fenofase 3 diferindo estatisticamente das demais fenofases. Na planície os menores valores foram obtidos nas fenofases 3 e 4, valores iguais entre si e diferentes da fenofase 1. Comparando a fenofase 3, época com a menor atividade vegetativa, com a fenofase 1, época com grande quantidade de brotações foliares (Anexo 8 e 9), observa-se diferenças estatísticas independente dos ambientes de coleta.



TABELA 1.29 - Conteúdo foliar médio de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio, em g/100 folhas, de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

<b>Nitrogênio (N)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	0,433	0,452	0,442 ab
2	0,476	0,441	0,458 a
3	0,467	0,423	0,445 a
4	0,396	0,365	0,381 b
Médias	0,443	0,420	
<b>Potássio (K)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	0,089 A b	0,094 A a	0,092
2	0,101 A b	0,118 A a	0,109
3	0,101 A b	0,117 A a	0,109
4	0,158 A a	0,101 B a	0,130
Médias	0,112	0,107	
<b>Fósforo (P)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	0,013 A a	0,014 A a	0,013
2	0,012 A a	0,012 A ab	0,012
3	0,009 A b	0,010 A b	0,009
4	0,013 A a	0,010 B b	0,011
Médias	0,011	0,011	
<b>Cálcio (Ca)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	0,159 A b	0,163 A ab	0,161
2	0,235 A a	0,181 B a	0,208
3	0,097 A c	0,130 A b	0,114
4	0,183 A b	0,129 B b	0,156
Médias	0,168	0,151	
<b>Magnésio (Mg)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	0,110 A ab	0,111 A a	0,111
2	0,129 A a	0,103 B ab	0,116
3	0,122 A ab	0,104 B ab	0,113
4	0,106 A b	0,085 B b	0,096
Médias	0,117	0,101	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

O maior conteúdo de Ca ocorre em matrizes localizadas no ambiente encosta, nas fenofases 2 e 4, nas demais épocas não ocorrem diferenças significativas entre os ambientes (Tabela 1.29). O teste de comparação de médias entre as fenofase em cada ambiente indicou que na encosta a fenofase 2 é estatisticamente superior as demais fenofases. Na planície a fenofase 2 também apresenta o maior conteúdo de Ca, valor estatisticamente igual a fenofase 1 e diferente das 3 e 4.

O comportamento do conteúdo de Ca, considerando o efeito das fenofases em cada ambiente, assemelha-se ao obtido para P, uma vez que em épocas com menor atividade vegetativa as matrizes apresentam menor conteúdo de Ca (Anexo 8 e 9), sendo essa resposta mais evidente no ambiente encosta. O maior conteúdo de Ca em épocas com maior atividade vegetativa pode estar relacionado à renovação de raízes nessas épocas. A absorção do Ca ocorre pelas raízes a partir da solução do solo e transportado para a parte aérea por meio do xilema, podendo atravessar a raiz através do citoplasma das células (transporte simplástico) ou ocorrer pelos espaços intercelulares (transporte apoplástico) (WHITE; BROADLEY, 2003). Em épocas em que as matrizes apresentam raízes em formação, ocorre maior absorção de Ca, visto que o desenvolvimento das estrias de Carpary não está totalmente completo, facilitando assim a absorção via apoplasto (WHITE, 2001).

O Ca no tecido vegetal possui baixa redistribuição, e imobilidade no floema, devido ao fato que predominam em muitas espécies formas do elemento insolúveis em água como o pectato da lamela média da parede celular (MALAVOLTA, 2006). Portanto a variação no conteúdo de Ca pode ser justificada pela variação da disponibilidade do elemento no solo, ou por diferenças nas taxas de absorção em cada fenofase.

Para o conteúdo de Mg o teste de comparação de médias (Tabela 1.29) entre os ambientes em cada fenofase, revelou que somente na fenofase 1 não houve diferenças estatísticas entre os ambientes, nas demais fenofases a encosta apresentou superioridade estatística em relação a planície. Entre as fenofases verificam-se variações de resposta dependendo do ambiente em que as matrizes se encontram, sendo que a fenofase 4 apresenta o menor conteúdo de Mg em relação as demais, valor que, na encosta, difere estatisticamente da fenofase 2, e na planície difere da fenofase 1. A principal diferença da fenofase 4 em relação as fenofases 1 e 2, é a ausência de brotações florais e de frutos maduros.

### 3.3.2.5. Conteúdo de micronutrientes

A Tabela 1.30 apresenta a análise de variância para o conteúdo foliar de micronutrientes de *Psychotria nuda*, onde se observa interação significativa entre os fatores época de coleta e fenofases para todos os nutrientes avaliados, indicando efeitos dependentes para os conteúdos foliares de *Psychotria nuda*.

TABELA 1.30 - Análise de variância (teste F) para o conteúdo de boro, zinco, ferro e manganês de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio			
		B	Zn	Fe*	Mn**
Fenofases (A)	3	0,122**	0,049**	0,115**	0,034 <sup>ns</sup>
Ambientes (B)	1	0,584**	0,138**	0,044**	0,005 <sup>ns</sup>
Interação AxB	3	0,033*	0,012**	0,012*	0,207**
Erro	152	0,012	0,002	0,004	0,022
Total	159				
Coeficiente de variação (%)		33,79	20,34	17,58	17,73
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		9,881 <sup>ns</sup>	12,342 <sup>ns</sup>	7,545 <sup>ns</sup>	7,356 <sup>ns</sup>

\* = significativo a 5%; \*\* = significativo a 1%; <sup>ns</sup> = não significativo a 5% (Dados transformado: \*  $\log(x+1)$ , \*\*  $\log(x)$ )

Para o conteúdo de B quando comparados os ambientes em cada fenofase, o teste de comparação de médias (Tabela 1.31) indicou que somente na fenofase 1 não houve diferenças estatísticas entre os ambientes, nas demais fenofases a encosta apresentou valores estatisticamente superiores a planície. Considerando o efeito das fenofases em cada ambiente, os maiores valores foram obtidos na fenofase 3, diferindo estatisticamente da fenofase 1 na encosta, e das fenofases 1 e 4 na planície. A fenofase 3 é classificada por apresentar a menor atividade vegetativa devido a ausência de brotações foliares e florais.

O maior conteúdo de obtido na fenofase 3 pode ter ocorrido devido aos altos índices pluviométricos nos meses anteriores a coleta, segundo Selle (2007) a maior decomposição da serapilheira, a qual é considerada a principal fonte de nutrientes para florestas, é favorecida por maiores taxas pluviométricas. Ferreira e Cruz (1991) relatam que o teor de matéria orgânica do solo, resultante da decomposição da serapilheira, possui correlação positiva com os teores de B absorvidos pela planta. Assim, as diferenças de conteúdo de B entre as fenofases, possivelmente se deve a disponibilidade do nutriente no solo, visto que o mesmo é considerado imóvel e de baixa translocação na planta (MALAVOLTA 2006).

Entretanto plantas que produzem complexos de açúcares simples com alcoóis (ex:sorbitol, manitol, dulcitol) no metabolismo fotossintético primário, ocorre redistribuição do B pelo floema por meio da ligação desse elemento com os complexos citados, assim o B é transportado para drenos ativos como meristemas vegetativos e reprodutivos. Assim, considerando as médias gerais da fenofase, pode-se justificar o menor teor de B na fenofase 1, época com a maior quantidade de brotações foliares e florais(Anexo 8 e 9), entretanto essa justificativa é hipotética, uma vez que a espécie necessita produzir quantidades significativas de polióis para que ocorra redistribuição do B, fato que não pode ser comprovado para *Psychotria nuda*.

A influência dos ambientes sobre o conteúdo de Zn apresenta resposta semelhante à obtida para o B, ou seja, somente na fenofase 2 não foi verificada diferenças estatísticas entre os ambientes, já nas demais fenofases a encosta mostrou-se superior à planície. Comparando as fenofases em cada ambiente pode-se verificar, por meio o teste de comparação de médias, que os maiores conteúdos Zn ocorrem na fenofase 4, sendo na encosta estatisticamente superior as demais e na planície estatisticamente igual à fenofase 1 e diferentes das 2 e 3. Na fenofase 4 as matrizes encontravam-se no de início da atividade vegetativa, enquanto que as fenofases 2 e 3 são caracterizadas pelo final do ciclo vegetativo, as quais apresentam numericamente os menores conteúdos de Zn em ambos os ambientes.

O conteúdo de Fe apresenta valores estatisticamente superiores na fenofase 4, para ambos os ambientes de desenvolvimento das plantas matrizes. Como descrito anteriormente, nessa época inicia-se o crescimento vegetativo da espécie (Anexo 8 e 9). Já o efeito dos ambientes não segue um padrão entre as fenofases, sendo a encosta superior em determinadas épocas e estatisticamente iguais a planície em outras fenofases. A superioridade da fenofase 4 em relação as demais, possivelmente é devido a maior disponibilidade do elemento no solo, uma vez que o Fe apresenta baixa mobilidade, a qual é afetada negativamente por elevada quantidade de Mn (DECHEN; NACHTIGALL, 2006). Assim, devido às altas concentrações obtidas de Mn, a disponibilidade no solo parece ser a responsável pelos resultados obtidos.

TABELA 1.31 – Conteúdo foliar médio de boro, zinco, ferro e manganês, em mg/100 folhas, de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

<b>Boro (B)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	0,281 A b	0,241 A b	0,261
2	0,414 A a	0,251 B ab	0,332
3	0,453 A a	0,333 B a	0,393
4	0,386 A a	0,226 B b	0,306
Médias	0,383	0,263	
<b>Zinco (Zn)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	0,272 A b	0,226 B ab	0,249
2	0,211 A c	0,193 A bc	0,202
3	0,258 A b	0,186 B c	0,222
4	0,332 A a	0,233 B a	0,283
Médias	0,268	0,209	
<b>Ferro (Fe)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	1,163 A b	1,238 A b	1,200
2	1,282 A b	0,995 B b	1,138
3	1,134 A b	0,993 A b	1,063
4	1,920 A a	1,554 B a	1,737
Médias	1,357	1,195	
<b>Manganês (Mn)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	7,047 A a	8,506 A a	7,777
2	6,593 B a	8,651 A a	7,622
3	7,251 A a	7,823 A a	7,537
4	8,538 A a	5,187 B b	6,863
Médias	7,357	7,542	
<b>Cobre (Cu)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	0,084	0,120	0,102
2	0,032	0,003	0,017
3	0,165	0,013	0,089
4	0,122	0,095	0,108
Médias	0,101	0,057	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Para o conteúdo de Mn e considerando as fenofases em cada ambiente, o teste de comparação de médias (Tabela 1.31) revelou que somente na planície houve diferenças estatísticas entre as fenofases, sendo o menor resultado obtido na fenofase 4 diferindo das demais épocas. Quando comparados os ambientes em cada fenofase verifica-se respostas opostas em determinadas fenofases, sendo a encosta superior na fenofase 4, entretanto na fenofase 2 a planície mostrou valores superiores. Os elevados valores de conteúdo de Mn, em todas as condições testadas podem ser decorrentes da baixa saturação de bases dos dois tipos de solo, os quais são classificados como hiperdistróficos ( $V < 35\%$ ). Em estudo realizado por Reissmann e Carneiro (2004), verificou-se que a maior saturação de bases diminuiu os níveis de Mn no tecido foliar de Erva-mate (*Ilex paraguariensis*).

Devido a grande quantidade de valores nulos para a concentração de Cu não foi possível a realização da análise estatística dos dados, entretanto, considerando os valores numericamente, constatou-se os menores conteúdos em fenofases em que as matrizes apresentavam flores e frutos, e para os ambientes, a encosta apresentou numericamente a maior média em relação à planície. Os menores conteúdos de Cu nas fenofases 3 e 4 pode ter ocorrido devido a presença de estruturas reprodutivas, as quais são consideradas drenos fortes, assim o Cu nessas épocas, possivelmente, foi mobilizados para essa região, uma vez que o elemento apresenta mobilidade entre as diferentes partes da planta (DECHEN; NACHTIGALL, 2006). Entretanto a variação do Cu pode ter ocorrido a outros fatores, pois Malavolta (2006) relatam que em baixas concentrações a redistribuição do elemento é comprometida.

#### **3.3.2.6. Relação C/N**

A Tabela 1.32 apresenta a análise de variância para a relação C/N das folhas de *Psychotria nuda*, considerando os dois ambientes de desenvolvimento das matrizes em quatro fenofases. Com os resultados obtidos verifica-se interação significativa entre os fatores analisados, indicando dependência dos efeitos.

TABELA 1.32 - Análise de variância (teste F) para relação carbono/nitrogênio em folhas de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio
Fenofases (A)	3	2,474**
Ambientes (B)	1	12,388**
Interação AxB	3	1,849**
Erro	152	0,336
Total	159	
Coeficiente de variação (%)		4,54
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		7,622 <sup>ns</sup>

\*\*= significativo a 1%; <sup>ns</sup> = não significativo a 5%

A relação C/N apresenta valores estatisticamente superiores na encosta, indicado pelo teste de comparação de médias entre os ambientes em cada fenofase (Tabela 1.33), sendo que somente a fenofase 3 não apresentou diferença estatística com a planície. Considerando as fenofases em cada ambiente, observa-se que a fenofase 2 apresenta a maior relação C/N nos dois ambientes, sendo que na encosta difere estatisticamente das fenofases 1 e 3, e na planície difere somente da fenofase 4.

TABELA 1.33 - Relação média de carbono/nitrogênio, nas folhas de *Psychotria nuda* para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	12,9 A bc	12,5 B ab	12,7
2	13,6 A a	12,7 B a	13,2
3	12,6 A c	12,6 A ab	12,6
4	13,1 A ab	12,2 B b	12,7
Médias	13,1	12,5	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

### 3.3.2.7. Eficiência nutricional

No estudo sobre a eficiência nutricional alguns aspectos devem ser considerados, visando um melhor entendimento dos resultados. A eficiência pode ser classificada em três tipos: a de absorção, a de transporte e de conversão, os quais são complexos quanto à sua constatação (SIDDIQI; GLASS, 1981). Entretanto, pode-se realizar uma estimativa mais simples, na qual por meio de uma análise comparativa é possível obter indicações gerais de eficiência. Para a realização dessa estimativa considera-se a massa seca de 100 folhas como

fator que possibilita uma aproximação do que seria produzido de biomassa, uma vez que considera o teor dos nutrientes contidos na massa de 100 folhas. Caldeira *et al.* (2004) comentam que uma espécie eficiente do ponto vista nutricional é aquela capaz de sintetizar o máximo de biomassa por nutriente absorvido.

A Tabela 1.34 apresenta a análise de variância para a eficiência de conversão dos macronutrientes para *Psychotria nuda*, considerando os dois ambientes de desenvolvimento das matrizes em quatro fenofases. A interação entre os fatores analisados ocorre para a maioria dos elementos, e somente o Mg não apresentou relação significativa, assim os efeitos dos fatores são considerados dependentes para a eficiência nutricional da espécie.

TABELA 1.34 - Análise de variância (teste F) para a eficiência de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio				
		N	K	P	Ca	Mg
Fenofases (A)	3	9,842 <sup>ns</sup>	25261,9 <sup>**</sup>	2188144,6 <sup>**</sup>	30269,0 <sup>**</sup>	320,8 <sup>ns</sup>
Ambientes (B)	1	56,341 <sup>**</sup>	13817,9 <sup>**</sup>	992594,9 <sup>**</sup>	2424,0 <sup>**</sup>	1442,4 <sup>*</sup>
Interação AxB	3	24,966 <sup>**</sup>	7398,9 <sup>**</sup>	211147,6 <sup>**</sup>	12595,3 <sup>**</sup>	156,4 <sup>ns</sup>
Erro	152	4,188	915,0	8009,1	258,1	274,8
Total	159					
Coeficiente de variação (%)		5,95	20,83	6,72	15,69	12,05
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		10,538 <sup>ns</sup>	7,402 <sup>ns</sup>	10,565 <sup>ns</sup>	11,904 <sup>ns</sup>	12,283 <sup>ns</sup>

\* = significativo a 5%; \*\* = significativo a 1%; <sup>ns</sup> = não significativo a 5%

Analisando o efeito dos ambientes sobre a estimativa da eficiência nutricional de todos os macronutrientes (Tabela 1.35) é verificado que a encosta, na maioria das condições testadas, apresenta matrizes com maior eficiência de conversão, quando não ocorre superioridade estatística da encosta os valores obtidos são estatisticamente iguais aos da planície. Somente para o Ca na fenofase 4 a planície apresentou valor maior ao verificado na encosta.

Para os macronutrientes constatou-se o efeito das fenofases sobre os índices de eficiência de utilização; somente para o Mg não foi observado esse efeito (Tabela 1.35). No que se refere à eficiência do N na produção de biomassa entre as fenofases, verifica-se que, na encosta, na fenofase 2 as matrizes apresentaram maior eficiência de uso desse nutriente na produção de folhas, valor que diferiu das fenofases 1 e 3. Em se tratando da eficiência de uso de K, os maiores índices de eficiência foram obtidos na fenofase 1, para ambos os ambientes, sendo que na encosta o valor difere somente da fenofase 4, e na planície difere de todas as demais fenofases.



TABELA 1.35 - Eficiência foliar média de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio, por massa seca de 100 folhas, de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

<b>Nitrogênio (N)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	34,7 A bc	33,4 A a	34,1
2	36,5 A a	33,5 B a	35,0
3	33,9 A c	33,9 A a	33,9
4	36,2 A ab	32,7 B a	34,5
Médias	35,4	33,4	
<b>Potássio (K)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	179,3 A a	163,6 A a	171,3
2	176,4 A a	130,9 B b	153,7
3	159,8 A a	128,7 B b	144,3
4	102,5 A b	120,4 A b	111,5
Médias	154,5	135,9	
<b>Fósforo (P)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	1202,9 A c	1057,5 B d	1130,2
2	1525,9 A b	1275,4 B b	1400,6
3	1770,2 A a	1492,9 B a	1631,6
4	1140,4 A c	1183,4 A c	1161,9
Médias	1409,8	1252,3	
<b>Cálcio (Ca)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	99,7 A b	93,6 A bc	96,6
2	74,1 A c	82,6 A c	78,3
3	170,8 A a	113,1 B a	141,9
4	80,6 B c	104,8 A ab	92,7
Médias	106,3	98,5	
<b>Magnésio (Mg)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	136,1	136,4	136,2
2	136,3	144,6	140,5
3	131,1	137,5	134,3
4	134,8	143,8	139,3
Médias	134,6 A	140,6 A	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

O teste que comparação de médias (Tabela. 1.35) revelou que para a eficiência de uso de P, as matrizes sob a fenofase 3, independente do ambiente de coleta, apresentaram os maiores índices, diferindo das demais fenofases. Para a eficiência de uso do Ca, as matrizes sob a fenofase 3 também apresentaram maior eficiência de uso do Ca para a produção de folhas da espécie, sendo que, na encosta o índice difere estatisticamente das demais fenofases, e na planície, difere das fenofases 1 e 2. Mesmo não havendo diferenças estatísticas entre as fenofases para os índices de eficiência de Mg, verifica-se que as matrizes na fenofase 2 apresentam os maiores valores.

Observa-se que os maiores índices de eficiência entre as fenofases variam dependendo do nutriente avaliado; entretanto pode-se verificar que a eficiência do uso de N, K e Mg nas matrizes sob as fenofases com maior crescimento vegetativo, apresentam valores maiores que nas fenofases com redução do crescimento vegetativo. Já para a eficiência de P, Ca e Mg, os maiores índices de eficiência ocorrem na fenofase com menor atividade vegetativa.

A Tabela 1.36 apresenta a análise de variância para a eficiência de conversão dos micronutrientes para *Psychotria nuda*, considerando os dois ambientes de desenvolvimento das matrizes em quatro fenofases. Para a eficiência do Zn e Mn a interação entre os fatores analisados mostrou-se significativa, sendo assim o efeito das fenofases é influenciado pelo ambiente de desenvolvimento das plantas matrizes. Já para a eficiência de B e Fe essa dependência não foi observada. Devido a grande quantidade de valores nulos para a eficiência de Cu não foi possível à realização da análise estatística dos dados.

TABELA 1.36 - Análise de variância (teste F) para a eficiência de boro, zinco, ferro e manganês de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio			
		B*	Zn	Fe	Mn*
Fenofases (A)	3	0,225**	6300,240**	412,689**	0,007 <sup>ns</sup>
Ambientes (B)	1	0,528**	2531,122**	5,016 <sup>ns</sup>	0,072**
Interação AxB	3	0,020 <sup>ns</sup>	842,746**	10,126 <sup>ns</sup>	0,069**
Erro	152	0,011	140,281	4,525	0,006
Total	159				
Coeficiente de variação (%)		6,15	17,72	17,05	15,20
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		8,393	6,364	13,286	13,770

\* = significativo a 5%; \*\*= significativo a 1%; <sup>ns</sup> = não significativo a 5% (\*Dados transformado por  $\log(x+1)$ )

Diferentemente do verificado para a eficiência dos macronutrientes, o ambiente que apresenta os melhores resultados para eficiência de uso dos micronutrientes variou dependendo da fenofase e do nutriente analisado (Tabela 1.37). Para a eficiência de utilização de B e Zn, a planície apresentou os maiores valores. No caso do Zn a superioridade da planície somente foi significativa nas fenofases 3 e 4. Observa-se para o índice de eficiência de Mn, que a encosta apresenta superioridade estatística nas fenofases 1 e 2, enquanto na fenofase 4 à planície mostra-se superior.

No que se refere à eficiência do B na produção de biomassa entre as fenofases, o teste de comparação de médias (Tabela 1.37) revelou que na fenofase 1 as matrizes apresentaram maior eficiência de uso desse nutriente na produção de folhas diferindo estatisticamente das fenofases 3 e 4. Para a eficiência de uso de Zn, os maiores índices de eficiência foram obtidos na fenofase 2, para ambos os ambientes, sendo que na encosta o valor difere das demais fenofases, e na planície difere somente da fenofase 4; entretanto, para ambos os ambientes, a fenofase 4 apresentou valores estatisticamente menor em comparação as demais fenofases.

Comportamento semelhante foi obtido para a eficiência de uso de Fe, ou seja, a fenofase 4 apresentou o menor índice, valor que difere das demais fenofases. Para a eficiência de uso do Mn, o teste de comparação de médias (Tabela 1.37) revelou que, na encosta, a fenofase 4 também apresentou o menor índice de eficiência, diferindo das demais fenofases; na planície a resposta foi oposta, onde a fenofase 4 exibiu o maior valor, o qual diferiu das fenofases 1 e 2.

TABELA 1.37 - Eficiência foliar média de boro, zinco, ferro e manganês, por massa seca de 100 folhas, de *Psychotria nuda*, para dois ambientes de coleta, provenientes de brotação de copa coletadas em quatro fenofases.

<b>Boro (B)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	57,6	66,2	61,9 a
2	44,9	65,9	55,4 ab
3	36,2	46,4	41,3 c
4	39,2	55,6	47,4 bc
Médias	44,5 B	58,5 A	
<b>Zinco (Zn)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	61,2 A b	69,1 A a	65,1
2	83,4 A a	78,6 A a	80,9
3	62,3 B b	78,4 A a	70,4
4	44,5 B c	57,1 A b	50,8
Médias	62,9	70,8	
<b>Ferro (Fe)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	13,4	12,7	13,0 a
2	13,8	15,5	14,6 a
3	14,4	14,5	14,4 a
4	7,6	7,9	7,8 b
Médias	12,3	12,7	
<b>Manganês (Mn)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	2,4 A a	1,8 B b	2,1
2	2,8 A a	1,9 B b	2,3
3	2,3 A a	2,0 A ab	2,1
4	1,9 B b	2,3 A a	2,1
Médias	2,3	2,0	
<b>Cobre (Cu)</b>			
Fenofases	Ambientes		Médias
	Encosta	Planície	
1	261,9	246,1	254,0
2	169,9	125,6	147,7
3	103,6	166,7	135,2
4	123,1	144,3	133,7
Médias	164,6	170,7	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal e da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fenofase 1: final da primavera; Fenofase 2: final do verão; Fenofase 3: final do outono; Fenofase 4: final do inverno.

Observa-se que os maiores índices de eficiência entre as fenofases variam dependendo do micronutriente avaliado; entretanto pode-se verificar que para a maioria dos nutrientes a fenofase 4 apresentou os menores valores de eficiência de utilização.

A variação na resposta de eficiência entre as fenofases pode estar relacionada a mudanças nas condições climáticas entre as mesmas. Fageria (1998) relata que vários são os fatores que afetam a eficiência nutricional, os quais estão ligados às condições ambientais, solo e planta. Segundo o mesmo autor dentre os fatores relacionados às condições climáticas tem-se a temperatura, radiação solar e precipitação. As variações de respostas observadas entre os ambientes de estudo estão associadas, possivelmente, as condições do solo. Dentre os fatores, que influenciam a eficiência nutricional, relacionados ao solo pode-se citar o pH do solo, a toxidez de alumínio, deficiência de fósforo e salinidade (FAGERIA, 1998).

Segundo MOLICA (1992) se uma planta apresenta alta eficiência de utilização para um determinado nutriente, em determinada condição, isto não quer dizer que ela também apresente alta eficiência para os demais nutrientes. Dificilmente será possível verificar alta eficiência na utilização de todos os nutrientes, o que está de acordo também com pesquisas realizadas por SANTANA *et al.* (2002) e SILVA *et al.* (2002), os quais também relatam que vários outros fatores (genéticos, ambientais, fisiológicos, bioquímicos e qualidade dos sítios) estão interligados, e que a eficiência nutricional varia em função da espécie, das procedências e dos sítios.

Considerando-se que a eficiência de conversão é a quantidade de biomassa seca produzida por nutriente utilizado, quanto menor for a quantidade de nutriente acumulado nas folhas, maiores serão os valores de eficiência de conversão. E segundo Bridgham *et al.* (1995), essa eficiência diminui com o aumento da disponibilidade do nutriente no solo, uma vez que, nesta condição, a produção de biomassa pelas plantas não sofre incremento na mesma proporção que a absorção e acúmulo do nutriente nos tecidos, havendo, nesse caso, um declínio na utilização interna do nutriente para a produção de biomassa.

Com os resultados obtidos foi observado que em condições com menor conteúdo de nutriente ocorreu uma maior eficiência de conversão, confirmando as informações descritas acima.

### **3.3.3. Correlações de Pearson**

As correlações obtidas entre as variáveis biométricas e nutricionais estão exibidas nos Anexos 16, 17, 18 e 19, correspondendo as fenofases 1, 2, 3 e 4 respectivamente, além de

apresentar os resultados para cada ambiente. Para a porcentagem de estacas vivas e mortas não foi realizada a correlação com a concentração de macro e micronutrientes, uma vez que os valores, no geral, foram baixos.

Com a observação geral dos coeficientes de correlação obtidos, verifica-se que cada um dos nutrientes apresentou correlação significativa com pelo menos uma variável biométrica, indicando que a nutrição mineral influencia de alguma forma o processo de estaquia. Verifica-se também que os coeficientes significativos e os nutrientes correlacionados, variam dependendo da fenofase e do ambiente analisado.

Os coeficientes de correlação que apresentaram significância, independente das variáveis correlacionadas, variaram de 0,444 a 0,748, esses valores podem ser considerados satisfatórios, visto que a análise nutricional foi realizada em plantas matrizes localizadas em ambiente natural, as quais estão submetidas a diversos fatores climáticos e edáficos. Na literatura consultada a maioria dos trabalhos, relacionando nutrição com o processo formações de raízes adventícias, utilizam materiais localizados em minijardim clonal. Cunha *et al.* (2009b) e Cunha *et al.* (2009c), ambos testando a influencia do estado nutricional de minicepas no enraizamento de miniestacas de eucalipto, obtiveram correlações significativas entre 0,4 a 0,6. Sendo assim, os coeficientes obtidos no presente trabalho podem ser considerados satisfatórios.

Entretanto para fins de discussão apenas os coeficientes acima de 0,6 foram considerados. Dentre as variáveis biométricas somente o comprimento das três maiores raízes e comprimento das três maiores brotações apresentaram coeficiente acima de 0,6.

Para a correlação entre o comprimento de raízes e a concentração de nutrientes, verifica-se que somente Ca e B apresentaram coeficientes acima de 0,6, ambos com efeitos negativos. Assim, o comprimento das raízes em estacas diminui com o aumento das concentrações de Ca, apresentando coeficiente de -0,668 na fenofase 3 no ambiente planície (Anexo 18). A correlação entre o B com o comprimento das raízes ocorreu na fenofase 4, no ambiente planície, apresentando coeficiente de -0,652.

O Ca também apresentou correlação negativa com a variável comprimento das brotações formadas, apresentando na fenofase 1, na encosta, coeficiente de -0,619. O comprimento das brotações exibiu correlação positiva com o N (0,672) e negativa com a relação C/N (-0,748), ambas na fenofase 1, no ambiente planície (Anexo 16). Esse resultado pode estar associado à função do nutriente no crescimento vegetativo, visto que é necessário para a síntese de compostos orgânicos, como aminoácidos e ácidos nucleicos, além de ser essencial em muitos outros componentes celulares (SOUZA; FERNANDES, 2006).

A influência do N na formação de brotações foi verificada em minicepas de *Eucalyptus dunnii* Maiden., apresentando correlação positiva, ou seja, minicepas com maior concentração desse nutriente responde com uma maior formação de brotações (ROSA, 2006). Correlações positivas entre a produtividade de miniestacas e os teores de nitrogênio também foram verificadas por Cunha (2006), para clones de *Eucalyptus spp*, o qual relata que o efeito positivo do nitrogênio em relação ao número de miniestacas pode estar relacionado ao fato de que este nutriente está relacionado ao crescimento vegetativo, traduzindo assim em aumentos de produtividade de brotações. Rocha e Oliveira (1996) observaram que estacas brotadas na presença de maiores teores de nitrogênio, apresentaram os maiores valores médios para o número e comprimento de brotações em estacas de *Malpighia emarginata* DC.

A presença de nitrogênio, em grande quantidade, nos tecidos vegetais favorece o desenvolvimento dos mesmos, assim estacas com alto teor de N apresenta maior desenvolvimento de brotações, e devido ao consumo das reservas, a formação de raízes é comprometida. De modo geral o N está correlacionado negativamente com o enraizamento de estacas e positivamente com a formação de brotações. Adicionalmente uma alta relação C/N é um índice que tem se correlacionado positivamente com a porcentagem de enraizamento e negativamente com a formação de brotações (HARTMANN *et al.*, 2011). No presente trabalho não foi verificado coeficientes de correlação acima de 0,6 para relação entre o N e C/N e as variáveis relacionadas ao enraizamento (porcentagem de enraizamento, número e comprimento de raízes); entretanto, obteve-se coeficientes significativos abaixo deste valor, indicando que existe relação entre as variáveis em um menor grau de correlação.

Na literatura o efeito do boro é relatado como positivo em relação à formação e desenvolvimento de raízes adventícias, possuindo função na regulação dos níveis endógenos de auxinas durante o desenvolvimento das mesmas, além de participar no processo de divisão celular (JARVIS *et al.*, 1984; MALAVASI, 1994). Entretanto para *Psychotria nuda*, como citado anteriormente, a correlação com o comprimento de raízes foi negativo. Para as demais variáveis relacionadas ao enraizamento, correlações negativas e significativas com o B também foram obtidas, entretanto com coeficientes abaixo de 0,6 (Anexo 19).

O B é o menos compreendido de todos os nutrientes minerais, embora em termos molares seja requerido pelas dicotiledôneas nas maiores quantidades dentre todos os micronutrientes. Não parece ser requerido por fungos ou bactérias e não há evidências de que seja nem um ativador, nem um constituinte de qualquer enzima (KIRKBY; RÖMHELD, 2007). As principais funções relatadas para o B nos processos fisiológicas são relacionadas com a formação e estabilização da parede celular, com a lignificação e diferenciação do

xilema (FURLANI, 2004), ao metabolismo dos carboidratos e transporte de açúcares através da membrana, síntese de ácidos nucleicos e de hormônios (TAIZ; ZEIGER, 2010)

Jarvis *et al.* (1984) afirma que a iniciação de raízes nas estacas é estimulada pela auxina, e o posterior crescimento pelo B. De acordo com Assis e Teixeira (1998), o B tem sido considerado mais importante no crescimento de raízes do que na indução do enraizamento. As afirmações relatadas pelos autores contrariam os resultados obtidos, entretanto em ambos os estudos citados foram experimentos foram conduzidos “in vitro”, sendo uma possível justificativa para a divergência entre os resultados.

O Ca é requerido para a divisão celular, formação da lamela média, no processo de alongamento de raízes e na parede celular (MARSCHNER, 1995). Em trabalho de revisão sobre a função dos nutrientes no processo de formação de raízes adventícias, Cunha *et al.* (2009a) relatam que o Ca apresenta importante papel na promoção do crescimento de raízes. No presente trabalho, para o comprimento de raízes a correlação obtida foi negativa, discordando das afirmações relatadas pelos autores. Entretanto altas concentrações de Ca podem prejudicar o enraizamento, fato observado para miniestacas de *Eucalyptus spp.*, uma vez que clones com alta concentração de Ca apresentaram correlação negativa com a porcentagem de enraizamento enquanto clones com concentrações menores a correlação foi positiva (CUNHA, 2006). Mesmo que os resultados apresentados pelo autor tenham sido para a porcentagem de enraizamento, possivelmente, essa relação pode também influenciar no comprimento das raízes. As concentrações de Ca em *Psychotria nuda* (Tabela 1.24) são superiores a trabalhos com espécies da Floresta Ombrófila Densa.

Em estudo avaliando a influência do estado nutricional da minicepa no enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus spp.*, Higashi *et al.* (2000) concluiu que quanto mais elevado o teor de Ca maior é a taxa de enraizamento, em todos os clones avaliados. Adicionalmente Eliasson (1978) descreve que estacas de *Pisum sativum* L. apresentam dificuldades de enraizamento na ausência de cálcio. E Bellamine, *et al.*, 1998 relataram que uma correlação positiva entre o número de raízes formadas por estaca e os teores de Ca, pode ser decorrente do envolvimento desse nutriente na divisão celular e transporte de auxina. Entretanto, em estudo com microestacas de *Eucalyptus globulos*, Schwambach *et al.* (2005) não obtiveram efeito significativo do Ca sobre o comprimento da maior raiz. Considerando dos trabalhos consultados, a grande maioria relata efeitos positivos do Ca sobre a formação e desenvolvimento de raízes adventícias.



### 3.4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foram desenvolvidos os experimentos de estaquia da presente pesquisa, foi possível concluir que:

- A propagação vegetativa via estaquia de *Psychotria nuda* é viável em qualquer fenofase que se encontram as plantas matrizes, sendo que em épocas com menor crescimento vegetativo (fenofases 3 e 4) se faz necessário um período maior que 60 dias no leito de enraizamento;
- Nas fenofases 3 e 4, mesmo com a menor porcentagem de enraizamento, as estacas permaneceram com calos ou vivas além de apresentarem baixa mortalidade a maior capacidade de retenção foliar;
- A estaquia da espécie está intimamente relacionada ao comportamento fenológico;
- Os melhores resultados de enraizamento ocorrem em épocas em que as plantas matrizes apresentam maior quantidade de brotações foliares, chegando a 92%;
- A presença de flores nas matrizes não interfere na indução e desenvolvimento do sistema radicial;
- A formação e desenvolvimento das brotações nas estacas são influenciados negativamente pela presença de flores e frutos;
- Os ambientes de desenvolvimento das matrizes apresentam efeitos sobre o processo de formação de raízes, sendo que esse efeito ocorre de forma isolada ou de forma dependente com os efeitos das fenofases, esse último ocorrendo na maioria das variáveis avaliadas;
- Somente sobre as variáveis porcentagem de brotação e porcentagem de estacas enraizadas com formação simultânea de calos, os ambientes não apresentaram nenhum efeito;
- Não se pode indicar qual o melhor ambiente de coleta das estacas, devido à dependência de seus efeitos com as fenofases, ou seja, para cada variável a resposta ocorre de forma distinta, não sendo possível afirmar qual o melhor ambiente tendo em vista todo o processo da estaquia;
- Para as variáveis principais relacionadas ao enraizamento (porcentagem de estacas enraizadas e comprimento das raízes), o ambiente encosta promoveu as melhores condições para a formação de raízes na maioria das fenofases.

Considerado as correlações entre as variáveis relacionadas ao sistema radicial com os relacionados a formação e desenvolvimento das brotações pode-se concluir que:

- O desenvolvimento de brotações foliares em estacas não prejudica a formação de raízes adventícias;
- Estacas coletadas em épocas de baixa atividade vegetativa (fenofases 3 e 4) a formação de brotações nas estacas auxilia a formação do sistema radicial;
- A retenção foliar nas estacas, durante sua permanência no leito de enraizamento, favorece o enraizamento principalmente em estacas oriundas de matrizes com baixo crescimento vegetativo, sendo seu efeito mais correlacionável com a porcentagem de enraizamento.

Nas condições em que foram desenvolvidas as análises nutricionais da presente pesquisa, foi possível concluir que:

- A massa seca de 100 folhas apresentou pouca variação entre as condições testadas, sendo influenciada somente pelas fenofases;
- O menor valor para a massa seca de 100 folhas ocorreu na fenofase 4, época no início do ciclo vegetativo;
- Foi observado efeito de concentração em parte dos nutrientes avaliados, onde as maiores concentrações ocorreram nos tratamentos com menor massa seca produzida;
- Na média geral de concentrações, *Psychotria nuda* apresenta a seguinte sequência decrescente N>Ca>K>Mg>P para os macronutrientes e Mn>Fe>B>Zn>Cu para os micronutrientes;
- Considerando os fatores analisados, a sequência dos macronutrientes foi a que apresentou maior variação comparada à sequência de micronutrientes, sendo essa variação decorrente principalmente pelas concentrações de K e Mg;
- Os ambientes de desenvolvimento das plantas matrizes influenciam os conteúdos de macro e micronutrientes para a maioria dos nutrientes, onde somente o conteúdo de N não apresentou diferenças frente aos ambientes;
- No geral as matrizes localizadas na encosta apresentaram maiores conteúdos de nutrientes;
- Os conteúdos dos macronutrientes, com exceção do N, apresentam variações relacionadas ao crescimento vegetativo das matrizes;
- O conteúdo de P, Ca e Mg foram menores em épocas de menor atividade vegetativa, enquanto o K apresentou valores superiores nessas épocas;

- Os conteúdos dos micronutrientes estão relacionados ao período reprodutivo das matrizes;
- As fenofases com maiores quantidades de flores e frutos apresentam os menores conteúdos foliares de Zn, Fe e Cu, enquanto o B é favorecido por épocas com a presença de estruturas reprodutivas;
- A encosta, no geral, apresentou matrizes com maiores índice de eficiência de conversão para os macronutrientes;
- Para os micronutrientes, o efeito do ambiente sobre a eficiência depende do nutriente analisado e das fenofases em que as matrizes se encontram.

Considerado as correlações entre as variáveis biométricas com as nutricionais, pode-se concluir que:

- A nutrição mineral das matrizes de *Psychotria nuda* influencia o processo de propagação vegetativa via estaquia;
- As correlações obtidas variam dependendo da fenofase da planta matriz e do ambiente de desenvolvimento.
- A influência positiva ou negativa da nutrição sobre o processo de estaquia depende do nutriente analisado em cada variável biométrica;
- Dentre as variáveis relacionadas ao sistema radicial adventício, somente para o comprimento das três maiores raízes houve correlações acima de 0,6, sendo a variável prejudicada pelas maiores concentrações de Ca e B;
- Dentre as variáveis relacionadas às brotações formadas nas estacas, somente para o comprimento das três maiores brotações foi verificado correlações acima de 0,6, sendo a variável favorecida pelo N, e prejudicada pela maior concentração de Ca e pela maior relação C/N.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, E. J. de; SCALOPPI, E. M. T.; JESUS, N.; MARTINS, A. B. G. Propagação de jambeiro Vermelho (*Syzygium malaccense* L.) por estaquia de ramos herbáceos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, n. 1, p. 39-45, 2008.
- ALMEIDA, E. M. de. **Ecologia reprodutiva e comportamento dos visitantes florais e dos frugívoros em duas espécies de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em uma área de Floresta Atlântica, Ilha Grande, Rio de Janeiro**. 102 p. Tese (Doutorado em Biologia) - Instituto de Biologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.
- ALMEIDA, E. M. de; ALVES M. A. S. Fenologia de *Psychotria nuda* e *P. Brasiliensis* (Rubiaceae) em uma área de Floresta Atlântica no Sudeste do Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 335-346, maio 2000.
- ALTHAUS, M. M.; LEAL, L.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RIBAS, L. L. F. Estaquia de *Belberis laurina* Billb. utilizando diferentes concentrações de ácido indol butírico. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 50, p. 99-105, jan./jun. 2005.
- ANTUNES, J. A. S.; HOFFMANN, A.; RAMOS, J. D.; CHALFUN, N. N. J.; OLIVEIRA JÚNIOR, A. F. Efeito do método de aplicação e de concentrações do ácido indol butírico no enraizamento de estacas semilenhosas de *Pyrus calleryana*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 18, n. 3, p. 371-376, 1996.
- ARAGÃO, A. G. de. **Estabelecimento de espécies florestais nativas, em área de restauração ciliar no baixo Rio São Francisco**. 70 p. Dissertação (Mestrado em Agrossistemas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2009.
- ARAÚJO, A. P.; MACHADO, C. T. T. Fósforo. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 253-280.
- BASTOS, D. C. **Efeito da época de coleta, estágio do ramo e do tratamento com IBA no enraizamento de estacas de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.)**. 75 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.
- BASTOS, D. C.; SCARPARE-FILHO, J. A.; FATINANSI, J. C.; PIO, R. Influência da idade biológica da planta matriz e do tipo de estaca caulinar de caramboleira na formação de raízes adventícias. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 1915-1918, 2009. Edição especial.

BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1983. 49 p. (Boletim Técnico, n. 78).

BELLAMINE, J.; PENEL, C.; GREPPIN, H.; GASPAR, T. Confirmation of the role of auxin and calcium in the late phases of adventitious root formation. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 26, p. 191-194, 1998.

BENINCASA, M. M. P.; LEITE, I. C. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2004. 169 p.

BETANIN, L.; NIENOW, A. A. Propagação vegetativa da corticeira-da-serra (*Erythrina falcata* Benth.) por estaquia caular e foliar. **Semina**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 871-880, out./dez. 2010.

BIASI, L. A., POMMER, C. V., PINO, A. G. S., Propagação de porta-enxertos de videira mediante estaquia semilenhosa. **Bragantia**, Campinas, v. 56, n. 2, p. 1-15, 1997.

BOEGER, M. R. T.; WISNIEWSKI, C. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 61-72, mar. 2003.

BOEGER, M. R. T.; WISNIEWSKI, C.; REISSMANN, C. B. Nutrientes foliares de espécies arbóreas de três estádios sucessionais de floresta ombrófila densa no sul do Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 167-181, 2005.

BORTOLINI, M. F. **Uso de ácido indol butírico na estaquia de *Tibouchina sellowiana* (cham.) Cogn.** 85 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

BORTOLINI, M. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S.; CARPANEZZI, A. A.; DESCHAMPS, C.; OLIVEIRA M. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. S. *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.: enraizamento, anatomia e análises bioquímicas nas quatro estações do ano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 18, n. 2, p. 159-171, abr./jun. 2008.

BREEMEN, N. VAN. Nutrient cycling strategies. **Plant and Soil**, The Hague, v. 168/169, p. 321-326, 1995.

BRIDGHAM, S. D.; PASTOR, J.; McCLAUGHERTY, C. A.; RICHARDSON, C. J. Nutrient-use efficiency: a litterfall index, a model, and a test along a nutrient availability

gradient in North Carolina peatlands. **The American Naturalist**, Chicago, v. 145, n. 1, p. 1-21, Jan. 1995.

BRITEZ, R. M. de. **Ciclagem de nutrientes minerais em duas florestas da planície litorânea da Ilha do Mel, Paranaguá**. 240 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1994.

BRUN, E. J.; ROSA, S. F.; ROPPA, C.; SCHUMACHER, M. V.; BRUN, F. G. K. Avaliação nutricional de espécies nativas utilizadas na arborização do campus da Universidade Federal de Santa Maria-RS. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana, Piracicaba**, v. 7, n. 1, p. 89-111, 2012.

CALDEIRA, M. V. W.; RONDON NETO, R. M.; SCHUMACHER, M. V. Eficiência do uso de micronutrientes e sódio em três procedências de Acácia-negra (*Acacia mearnsii* DE WILD.). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 39-47, jan./fev. 2004.

CARVALHO, R. I. N. de; SILVA, I. D. da; FAQUIM, R. Enraizamento de miniestacas herbáceas de maracujazeiro amarelo. **Semina**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 387-392, jul./set. 2007.

CORRÊA, C. E. **Ecologia de populações de *Psychotria nuda* (Rubiaceae) em Floresta Ombrófila Densa**. 124 p. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

CUNHA, A. C. M. C. M. **Relações do estado nutricional de minicepas e condições meteorológicas com o número e o enraizamento de miniestacas de Eucalipto**. 112 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

CUNHA, A. C. M. C. M.; PAIVA, H. N.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Papel da nutrição mineral na formação de raízes adventícias em plantas lenhosas. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 58, p. 35-47, 2009a.

CUNHA, A. C. M. C. M.; PAIVA, H. N.; BARROS, N. F.; LEITE, H. G.; LEITE, F. P. Relação do estado nutricional de minicepas com o enraizamento de miniestacas de Eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 33, n. 3, p. 591-600, 2009b.

CUNHA, A. C. M. C. M.; PAIVA, N.; LEITE, H. G.; BARROS, N. F.; LEITE, F. P. Influência do estado nutricional de minicepas no enraizamento de miniestacas de Eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 607-615, 2009c.

CUNHA, A. C. M. C. da; WENDLING, I.; SOUZA JÚNIOR, L. **Influência da presença ou ausência de folhas no enraizamento de miniestacas de corticeira-do-mato (*Erythrina falcata* Benth) obtidas em sistema hidropônico**. Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 5 p. (Comunicado Técnico, n. 89).

DALL'ORTO, F. A. C.; GARLIPP, R. C. D.; BRAUNER, J. L.; MIRANDA, M. T. Concentrações de alguns macro e micronutrientes em essências florestais do parque da escola superior de agricultura Luiz de Queiroz. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, Piracicaba, v. 33, p. 223-242, 1979.

DECHEN, A. R.; NACHTIGALL, G. R. Micronutrientes. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 327-374.

DELPRETE, P. G.; SMITH, L. B.; KLEIN, R. M. R. **Flora Ilustrada Catarinense: Rubiaceae**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2005. v. 2.

DRECHSEL, P.; ZECH, W. Foliar nutrient levels of broad-leaved tropical trees: A tabular review. **Plant and Soil**, v. 131, p. 29-46, 1991.

ELIASSON, L. M. Effects of nutrients and light on growth and root formation in *Pisum sativum* cuttings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 43, p. 13-18, 1978.

EUTRÓPIO, F. J.; SILVA, A. G. Análise comparada de perda de área em folhas jovens e adultas de *Croton* sp. (Euphorbiaceae) na REBIO de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, Sudeste do Brasil. **Natureza on line**, v. 7, n. 1, p. 27-30, 2009. [on line] <http://www.naturezaonline.com.br>.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. Propagação vegetativa por estaquia. In: FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 69-109.

FAGERIA, N. K. Otimização da eficiência nutricional na produção das culturas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, p. 6-16, 1998.

FERREIRA, B. G. A. **Propagação de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax por estaquia, miniestaquia e sementes**. 149 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

FERREIRA, B. G. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; BOEGER, M. R. T.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. pela aplicação de ácido indol butírico e ácido bórico. **Leandra**, Rio de Janeiro, v.16, p. 11-16, 2001.

FERREIRA, G.; FERRARI, T. B. Enraizamento de estacas de Atemoieira (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.) cv. Gefner submetidas a tratamento lento e rápido com auxinas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 329-336, mar./abr. 2010.

FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. da. **Micronutrientes na agricultura**. Piracicaba: Associação Brasileira para pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1991. 734 p.

FERRIANI, A. P. **Estaquia de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén) com uso de ácido indol butírico**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

FOCHESATO, M. L.; MARTINS, F. T.; SOUZA, P. V. D.; SCHWARZ, S. F.; BARROS, I. B. I. Propagação de louro (*Laurus nobilis* L.) por estacas semilenhosas com diferentes quantidades de folhas e tratadas com ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 72-77, 2006.

FRAGOSO, V. **Alcalóides de Psychotria**: fotorregulação e propriedades antioxidantes e antimutagênicas. 102 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

FRANCESCHI, V. R.; NAKATA, P. A. Calcium oxalate in plants: formation and fuction. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 56, p. 41-71, 2005.

FURLANI, A. M. C. Nutrição mineral. In: KERBAUY, G. B. (Ed.). **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. P. 40-75.

GARBUIO, C.; BIASI, L. A.; KOWALSKI, A. P. J. Propagação por estaquia em Patchouli com diferentes números de folhas e tipos de estacas. **Scientia Agrária**, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 435-438, 2007.

GRANDISOLI, E. A. C. **Biologia reprodutiva e estrutura da população de *Psychotria suterella* Muell. Arg. (Rubiaceae) em um fragmento de mata secundária em São Paulo (SP)**. 96 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.



HARIDASAN, M.; ARAÚJO, G. M. Perfil nutricional de espécies lenhosas de duas florestas semidecíduas em Uberlândia, MG. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 295-303, abr./jun. 2005.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JÚNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant Propagation: principles and practices**. 8. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2011. 915 p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. Nutritional monitoring and fertilization in clonal macro-, mini-, and microgardens. In: GONÇALVES, J. L. M.; BENEDETI, V. (Ed.). **Forest nutrition and fertilization**. Piracicaba: IPEF, 2004. p. 195-221.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; FIRME, D. J.; LEITE, F. P.; GONÇALVES, A. N. Influência do estado nutricional da minitouça no enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus spp.* In: REUNIÃO DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 25., Santa Maria, 2000. **Anais...** Santa Maria: SBCE/SBM, 2000. p. 1-3.

INSTITUTO PARANAENSE DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL (IPARDES). **Zoneamento da APA de Guaraqueçaba**. Curitiba: IPARDES, 2001. 146 p.

JARVIS, B. C.; YASMIN, S.; ALI, A. H. N.; HUNT, R. The interaction between auxin and boron in adventitious root development. **New Phytologist**, Cambridge, v. 91, p. 197-204, 1984.

JOLY, C. A.; AIDAR, M. P. M.; KLINK, C. A.; McGRATH, D. G.; MOREIRA, A. G.; MOUTINHO, P.; NEPSTAD, D. C.; OLIVEIRA, A. A.; POTT, A.; RODAL, M. J. N.; SAMPAIO, E. V. S. B. Evolution of the Brazilian phytogeography classification systems: implications for biodiversity conservation. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 51, n.5/6, p. 331-348, 1999.

KACHECHEBA, J. L. Seasonal effects of light and auxin on the rooting of Hibiscus cuttings. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 5, p. 345-351, 1976.

KIBBLER, H.; JOHNSTON, M. E.; WILLIAMS, R. R. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell 2, seasonal influences of temperature, rainfall, flowering and auxins on the stock plant. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 102, n. 3, p. 343-358, Nov. 2004.

KIRKBY, E. A.; RÖMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. **Encarte Técnico**, Goiânia, n. 118, p. 1-24, 2007.

KNAPIK, J. G.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; KOEHLER, H. S. Influência da época e da aplicação de ácido indol butírico na propagação por estaquia da *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn. (quaresmeira). **Iheringia**, Porto Alegre, v. 58, n. 2, p. 171-179, jul./dez. 2003.

LERSTEN, N. R.; HORNER JR., H. T. Development and structure of bacterial leaf nodules in *Psychotria bacteriophila* Val. (Rubiaceae). **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 94, p. 2027-2036, Dec. 1967.

LIMA, R. L. S.; SIQUEIRA, D. L.; WEBER, O. B.; CAZETTA, J. O. Comprimento de estacas e parte do ramo na formação de mudas de aceroleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 83-86, 2006.

MALAVASI, U. C. Macropropagação vegetativa de coníferas - perspectivas biológicas e operacionais. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 1, p. 131- 135, 1994.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

MALAVOLTA, E.; FERNANDES, D. R.; CASALE, H.; ROMERO, J. P. Seja o doutor do seu cafezal. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 64, p. 1-36, dez. 1993. (Encarte Técnico).

MARSCHNER, H. Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. **Plant and Soil**, The Hague, v.134, n.1, p.1-20, July 1991.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

MARTINEZ, H. E.; MENEZES, J. F. S.; SOUZA, R. B. de; VENEGAS, V. H.; GUIMARÃES, P. T. G. Faixas críticas de concentrações de nutrientes e avaliação do estado nutricional de cafeeiros em quatro regiões de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 6, p. 703-713, 2003.

MARTINS, A. P. L.; REISSSMANN, C. B. Material vegetal e as rotinas laboratoriais nos procedimentos químico-analíticos. **Scientia Agrária**, Curitiba, v. 8, n. 1, p. 1-17, 2007.

MICHIGAN STATE UNIVERSITY. Department of Agricultural Economics. Department of Crop and Soil Sciences. **MSTAT-C: Microcomputer Statistical Program - Version: 2.1.** East Lansing, 1989.

MINDÊLLO-NETO, U. N.; TELLES, C. A. T.; BIASI, L. A. Enraizamento de estacas lenhosas de ameixeiras tratadas com ácido indolbutírico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 448-452, mar./abr. 2006.

MOLANO-FLORES, B. Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). **Annals of Botany**, London, v. 88, n. 3, p. 387-391, 2001.

MOLICA, S. G. **Produção de biomassa e eficiência nutricional de híbridos interespecíficos de eucalipto, em duas regiões bioclimáticas de Minas Gerais.** 84f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1992.

MORAES, R. M.; DOMINGOS, M. Elementos minerais em folhas de espécies arbóreas de Mata Atlântica e Mata de Restinga, na Ilha do Cardoso, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 133-138, 1997.

NERY, F. S. G. **Propagação vegetativa de *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae) nas quatro estações do ano.** 102 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

OLIVEIRA, M. C. de; RIBEIRO, J. F.; RIOS, M. N. da; REZENDE, M. E. **Enraizamento de estacas para a produção de mudas de espécies nativas de mata de galeria.** Brasília: Embrapa Cerrados, 2001. 4 p. (Recomendação Técnica, n. 41).

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; FONTES, M. A. L. Patterns of Floristic Differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the Influence of Climate. **Biotropica**, Washington, v. 32, n. 4b, p. 793-810, 2000.

PIMENTA, A. C.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; OLIVEIRA, B. H.; CARPANEZZI, A. A.; KOEHLER, H. S. Interações entre reguladores vegetais, épocas do ano e tipo de substrato no enraizamento de estacas caulinares de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 50, p. 53-67, jan./jun. 2005.

PIO, R.; RAMOS, J. D.; CHALFUN, N. N. J.; GONTIJO, T. C. A.; MENDONÇA, V.; CARRIJO, E. P.; CHAGAS, E. A. Propagação de estacas apicais de figueira: diferentes ambientes, ácido indolbutírico e tipo de estaca. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 1021-1026, 2006.

PROGRAMA PROTEÇÃO DA MATA ATLÂNTICA (PRÓ-ATLÂNTICA). **Atlas da Floresta Atlântica no Paraná**: área de abrangência do programa proteção da Floresta Atlântica. Curitiba: SEMA/Programa Proteção da Floresta Atlântica, 2005. 104 p.

PURUSHOTHAM, K.; SULLADMATH, U. V.; RAMAIAH, P. K. Seasonal changes in biochemical constituents and their relation to rooting of coffee (*Coffe canephora* Pierre) sucker cuttings. **Journal of Coffee Research**, Mysore, v. 14, n. 3, p. 117-130, 1984.

QUINTEIRO, M. M. C.; TEIXEIRA, D. C.; MORAES, M. G.; SILVA, J. G. Anatomia foliar de *Psychotria viridis* Ruiz & Pav. (Rubiaceae). **Revista da Universidade Rural Série Ciência da Vida**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 2, p. 30-41, 2006.

RADOMSKI, M. I. **Caracterização ecológica e fitoquímica de *maytenus iliciolia* mart., em populações nativas, no município da Lapa - Paraná**. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1998.

REICH, P. B.; ELLSWORTH, D. S.; UHL, C. Leaf carbon and nutrient assimilation and conservation in species of different successional status in an oligotrophic Amazonian forest. **Functional Ecology**, Oxford, v. 9, p. 65-76, 1995.

REIS, J. M. R.; CHALFUN, N. N. J.; LIMA, L. C. O.; LIMA, L. C. Efeito do estiolamento e do ácido indol butírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 4, p. 931-938, 2000.

REISSMANN, C. B.; CARNEIRO, C. Crescimento e composição química de Erva-mate (*Ilex paraguariensis* ST. HIL.), transcorridos oito anos de calagem. **Floresta**, Curitiba, v. 34, n. 3, p. 381- 386, 2004.

REISSMANN, C. B.; KOEHLER, C. W.; ROCHA, H. O. da; HILDEBRAND, E. E. Avaliação das exportações de macronutrientes pela exploração da erva-mate. In: SEMINARIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS: Silvicultura da Erva-mate (*Ilex paraguariensis*), 10., 1983, Curitiba. **Anais...** Curitiba: EMBRAPA-CNPQ, 1985. p. 128-139. (Documentos, 15).

REISSMANN, C. B.; PREVEDELLO, B. M. S.; QUADROS, R. M. B. de.; RADOMSKI, M. I. Production and foliar N, P, K, Ca and Mg levels in erva-mate (*Hex paraguariensis* St. Hil.) related to increasing base saturation levels. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 40, n. 1, p. 241-249, 1997.

REISSMANN, C. B.; ROCHA, H. O. da; KOEHLER, C. W.; CALDAS, R. L. S. HILDEBRAND, E. E. Bio-elementos em folhas e hastes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) sobre cambissolos na região de Mandirituba-PR. **Floresta**, Curitiba, v. 14, n. 2, p. 49-54, 1983.

RESENDE, A. V.; FURTINI NETO, A. E.; CURI, N.; MUNIZ, J. A.; FARIA, M. R. Acúmulo e eficiência nutricional de macronutrientes por espécies florestais de diferentes grupos sucessionais em resposta à fertilização fosfatada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p. 160-173, jan./mar. 2000.

RESENDE, A. V.; FURTINI NETO, A. E.; MUNIZ, J. A.; CURI, N.; FAQUIN, V. Crescimento inicial de espécies florestais de diferentes grupos sucessionais em resposta a doses de fósforo. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 11, p. 2071-2081, nov., 1999

ROCHA, R. C. C.; OLIVEIRA, O. F. Influência do cálcio, magnésio e nitrogênio no enraizamento de estacas de acerola (*Malpighia emarginata* DC.). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 9, n. 1/2, p. 97-102, 1996.

RODERJAN, C. V.; GALVÃO, F.; KUNIYOSHI, Y. S.; HATSCHBACH, G. G. As Unidades Fitogeográficas do Estado do Paraná, Brasil. **Ciência & Ambiente**, Santa Maria, v. 24, p. 75-92, jan./jun. 2002.

ROSA, L. S. **Adubação nitrogenada e substratos na miniestaqueia de *Eucalyptus dunnii* Maiden**. 100 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal - Silvicultura) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

SANTANA, R. C.; BARROS, N. F. de; NEVES, J. C. L. Eficiência de utilização de nutrientes e sustentabilidade da produção em procedências de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna* em sítios florestais do Estado de São Paulo. **Revista Árvore**, Viçosa, v.26, n.4, p.447-457, 2002.

SANTOS, J. P.; DAVIDE, A. C.; TEIXEIRA, L. A. F.; MELO, A. J.; MELO, L. M. Enraizamento de estacas lenhosas de espécies florestais. **Cerne**, Lavras, v. 17, n. 3, p. 293-301, 2011.

SASSO, S. A. Z.; CITADIN, I.; DANNER, M. Propagação de Jaboticabeira por estaquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 577-583, 2010.

SCHWAMBACH, J.; FADANELLI, C.; FETT-NETO, A. G. Mineral nutrition and adventitious rooting in microcuttings of *Eucalyptus globulus*. **Tree Physiology**, Victoria, v. 25, p. 487-494, 2005.

SELLE, G. L. Ciclagem de nutrientes em ecossistemas florestais. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 4, p. 29-39, Oct./Dec. 2007.

SHINZATO, E.; CARVALHO-FILHO, A. **Projeto APA Sul RMBH**: estudos do meio físico, pedologia. Belo Horizonte: CPRM/EMBRAPA/SEMAD. 2005. 55 p.

SIDDIQI, M.; GLASS, A. D. M. Utilization Index: A modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Jornal of Plant Nutrition**, New York, v. 4, n. 3, p. 289-302, 1981.

SILVA, L. D. A. B. da. **Anatomia foliar e taxa de herbivoria em *Psidium cattleianum* Sab. (Myrtaceae)**. 95 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

SILVA, S. R.; BARROS, N. F. de; NOVAIS, R. F.; PEREIRA, P. R. G. Eficiência nutricional de potássio e crescimento de eucalipto influenciados pela compactação do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.26, p.1001-1010, 2002.

SPVS-SOCIEDADE DE PESQUISA EM VIDA SELVAGEM E EDUCAÇÃO AMBIENTAL; TNC-THE NATURE CONSERVANCY. **Levantamento de Solos - Reserva Natural Morro da Mina**, 2002. Relatório Técnico Interno (não publicado).

SPVS-SOCIEDADE DE PESQUISA EM VIDA SELVAGEM E EDUCAÇÃO AMBIENTAL. **Reserva Natural do Morro da Mina**. Disponível em: <[http://www.spvs.org.br/projetos/rnt\\_morro.php](http://www.spvs.org.br/projetos/rnt_morro.php)>. Acesso em: 2/2/2010.

SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 215-252.

SWIADER, J. M.; CHYAN, Y.; FREIJI, F. G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Jornal of Plant Nutrition**, New York, v. 17, n. 10, p. 1678-1669, 1994.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 5. ed. Massachusetts: SINAUER, 2010. 782 p.

TAYLOR, C. M.; DOMÍNGUEZ-LICONA, E.; OCHOTERENA, H. A new species of *Psychotria* subg. *Psychotria* (Rubiaceae, Psychotrieae) from West-Central Mexico. **Novon: A Journal for Botanical Nomenclature**, Saint Louis, v. 17, p. 105-109, apr. 2007.

TÉO, S. J.; MACHADO, S. A.; REISSMANN, C. B.; FIGUEREDO FILHO, A. Concentração e conteúdo de macronutrientes da biomassa de *Mimosa scabrella* Benth, em diferentes classes de sítio, idade e diâmetro. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, n. 6, p. 459-467, nov./dec. 2010.

THOMPSON, J.; PROCTOR, J.; VIANA, V.; MILLIKEN, W.; RATTER, J. A.; SCOTT, D. A. Ecological studies on a lowland evergreen rain forest on Maracá Island, Roraima, Brazil. I. Physical environment, forest structure and leaf chemistry. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 80, n. 4, p. 689-703, Dec. 1992.

TOFANELLI, M. B. D.; CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A.; CHALFUN JÚNIOR, A. Enraizamento de estacas lenhosas e semilenhosas de cultivares de ameixeira com várias concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 509-513, 2002.

VAN OEVELEN, S. DE WACHTER, R.; VANDAMME, P.; ROBBRECHT, E.; PRINSEN, E. Identification of the bacterial endosymbionts in leaf galls of *Psychotria* (Rubiaceae, angiosperms) and proposal of “*Candidatus Burkholderia kirkii*” sp. Nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 52, p. 2023-2027, 2002.

VAN OVERBEEK, J.; GORDON, S. A.; GREGORY, L. E. An analysis of the function of the leaf in the process of root formation in cuttings. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 33, p. 100-107, 1946.

VAN SCHAIK, C. P.; TERBORGH, J. W.; WRIGHT, S. J. The phenology of Tropical Forests: adaptative significance and consequences for primary consumers. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 24, p. 353-377, 1993.

VANHONI, F.; MENDONÇA, F. O clima do litoral do estado do Paraná. **Revista Brasileira de Climatologia**, Curitiba, v. 3/4, p. 49-63, ago. 2008.

VELOSO, H. P.; RANGEL FILHO, A. L. R.; LIMA, J. C. A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro: IBGE/DERMA, 1991. 123 p.

VITARELLI, N. C.; SANTOS, M. Anatomia de estípulas e coléteres de *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Acta Botânica Brasilica**, Porto Alegre, v. 23, n. 4, p. 923-928, 2009.

VITOUSEK, P. M.; SANFORD JR., R. L. Nutrient cycling in moist tropical forest. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo alto, v. 17, p. 137-167, 1986.

VOLK, G. M.; LYNCH-HOLM, V. J.; KOSTMAN, T. A.; GOSS, L. J.; FRANCESCHI, V. R. The role of druse and raphide calcium oxalate crystals in tissue calcium regulation in *Pistia stratiotes* leaves. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 4, p. 34-45, 2002.

WENDLING, I.; FERRARI, M. P.; DUTRA, L. F. **Produção de mudas de corticeira-do-banhado por miniestaquia a partir de propágulos juvenis**. Colombo: Embrapa Florestas, 2005. 5 p. (Comunicado Técnico, n. 130).

WHITE, P. J. The pathways of calcium movement to the xylem. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 358, p. 891-899, may 2001.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Calcium in plants. **Annals of Botany**, London, v. 92, p. 487-511, 2003.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 272 p.

YAMADA, T. Boro: será que estamos aplicando a dose suficiente para o adequado desenvolvimento das plantas? **Informações agronômicas**, Piracicaba, n. 90, p. 1-5, 2000.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos**. Curitiba: [K. C. Zuffellato-Ribas], 2001. 39 p.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WITT, N. G. P. M. Influência do ambiente na propagação vegetativa via estaquia de *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 12., 2009, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal, 2009. p. 168-168.



#### 4. CAPÍTULO II: ANATOMIA DE ESTACAS CAULINARES COLETADAS EM DIFERENTES AMBIENTES DE DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS MATRIZES DE *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra E FORMAÇÃO DE RAÍZES ADVENTÍCIAS

##### RESUMO

*Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae) é uma espécie nativa da Floresta Ombrófila Densa (FOD), restrita às florestas de baixa altitude, com ocorrência nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. O gênero é considerado taxonomicamente complexo devido ao tamanho e à ausência de caracteres morfológicos disponíveis para a definição de seus grupos. Para o sucesso da estaquia caulinar é necessário o desenvolvimento de um sistema radicial funcional, onde a estrutura anatômica da estaca pode interferir no processo. O objetivo do presente trabalho foi estudar as características anatômicas e histoquímicas de caule e folhas de estacas caulinares de *Psychotria nuda* e relaciona-las com o ambiente de desenvolvimento da planta, além de caracterizar a formação das raízes adventícias, de calos e identificar possíveis barreiras anatômicas ao desenvolvimento radicial. Amostras de folhas e da base de estacas, coletadas de matrizes localizadas em dois ambientes distintos (planície e encosta) da Floresta Ombrófila Densa em Antonina-PR, foram obtidas antes da instalação do experimento de estaquia e, após 60 dias no leito de enraizamento, foram coletadas amostras da base das estacas que apresentavam as seguintes características: 1) estacas somente com calos, 2) estaca enraizada sem calos e 3) estacas enraizadas e com calos. Secções anatômicas foram confeccionadas utilizando-se microtécnicas usuais de anatomia vegetal. As características anatômicas do caule de estacas coletadas em diferentes ambientes não apresentaram diferenças marcantes em relação a sua estrutura interna; entretanto, entre as folhas existem diferenças estruturais no mesófilo foliar. Estruturalmente, o caule caracteriza-se por apresentar epiderme unisseriada, córtex composto de colênquima, parênquima e endoderme com estrias de Caspary, cilindro central em estrutura secundária, com periciclo apresentando grupos isolados de fibras, câmbio ativo e medula parenquimática. A lâmina foliar é dorsiventral, hipoestomática com estômatos paracíticos, apresenta mesófilo com duas ou três camadas de parênquima paliádico e sete a nove camadas de parênquima lacunoso, para estacas provenientes da encosta e da planície respectivamente. A região da nervura central apresenta feixe vascular com duas regiões laterais de aerênquima, sistema vascular classificado como colateral, sendo acompanhado por dois feixes laterais menores e presença de fibras perivasculares adjacentes ao floema. Cristais de oxalato de cálcio prismáticos são observados tanto em secções do caule como em folhas, além de areias cristalinas nos caules e cristal estilóide nas folhas. Nos cristais prismáticos foi observada uma lamela lipídica recobrimdo os cristais. Por meio do estudo anatômico do enraizamento, foram observadas as seguintes características: 1) as raízes adventícias tem origem direta do câmbio vascular; 2) os calos são formados da região cambial e da medula; 3) não foi observada formação de raízes do tecido dos calos; 4) não foi detectada a presença de barreiras anatômicas à indução radicial; 5) foi detectada presença de grãos de amido concentrados nos tecidos das raízes. Os resultados indicam que esta espécie possui características anatômicas que facilitam a formação de raízes adventícias.

**Palavras-chave:** anatomia caulinar, anatomia foliar, primórdios radiciais, Rubiaceae.

**ANATOMY OF STEM CUTTINGS COLLECTED IN DIFFERENT *Psychotria nuda*  
(Cham. & Schltdl.) Wawra STOCK PLANTS' ENVIRONMENTS AND  
ADVENTITIOUS ROOT FORMATION.**

**ABSTRACT**

*Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae) is a native species from the Dense Ombrophylous Forest (dense tropical rain forest), endemic to the low altitudes forests, occurring in the states of Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul. The genus is considered taxonomically complex due to the size and the absence of morphological characters available for the definition of its groups. For the success of stem cuttings it is necessary to develop a functional root system, which process may suffer direct influence by the anatomical structure of the cutting. The aim of this work was to study the anatomical and histochemical characteristics of the stem, leaves and cuttings, as well as relate the structural properties with the plant development environment, besides characterizing the adventitious roots and callus formation, as well as identifying possible root development anatomical obstacles. Samples of leaves and base of the cuttings collected from stock trees placed in two different environments (plain and hillside) of the dense tropical rain forest in Antonina-PR, were obtained prior to the experiment. After 60 days in rooting beds samples were collected from the bottom of the cuttings which had the following characteristics: 1) rooted cutting without calluses, 2) cuttings with callus and 3) rooting and calluses. Anatomic sections were made using plant anatomy usual microtechniques. The internal structure of the stem cuttings collected in different environments did not differ significantly to what regards its internal structure, however the leaves have structural differences in their mesophyll. Structurally, the stem is characterized by having uniseriate epidermis, cortex composed by collenchyma, parenchyma and endodermis with Casparian strips; central cylinder in secondary structure, pericycle presenting isolated groups of fibers, active cambium and parenchymatous pith. The leaf is dorsiventral, hypostomatic with paracytic stomata, presents mesophyll with two or three layers of palisade parenchyma and seven to nine layers of spongy parenchyma, for cuttings from the hillside and plain respectively. The midrib region shows vascular bundle with two lateral regions of aerenchyma, vascular system rated as collateral, accompanied by two smaller side beams and the presence of perivascular fibers adjacent to the phloem. Prismatic calcium oxalate crystals are observed both in sections of the stem and leaves, and sands crystal in the stems and styloid crystals in the leaves. In the prismatic crystals was observed a lipid lamellae covering the crystals. Carrying out anatomical studies of rooting, the following characteristics were observed: 1) the adventitious roots are originate direct from vascular cambium, 2) callus are formed from the cambial and pith regions; 3) root formation from calluses tissue was not observed; 4) anatomical barriers to roots induction was not detected, 5) presence of starch grains concentrated in roots tissues. The results indicate that this species has anatomical features which benefit the formation of adventitious roots.

**Key-words:** stem anatomy, leaf anatomy, early rooting, Rubiaceae.

#### 4.1. INTRODUÇÃO

*Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra é uma espécie arbórea pertencente à família Rubiaceae, nativa do Brasil encontrada na Floresta Ombrófila Densa da encosta atlântica dos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (DELPRETE *et al.*, 2005; TAYLOR, 2007). É classificada como esciófita, higrófito, situadas nos estratos inferiores de florestas primárias bem desenvolvidas (IZA, 2002; FERMINO JUNIOR *et al.*, 2004; GORENSTEIN, 2007, PRATA *et al.*, 2011). Apresenta importância ecológica, potencial farmacêutico-medicinal e ornamental (DELPRETE *et al.*, 2005 FRAGOSO, 2007).

A família Rubiaceae apresenta 650 gêneros e aproximadamente 13.000 espécies sendo, portanto, um dos maiores grupos entre as Angiospermas (ROBBRECHT *et al.*, 2012). A estrutura foliar de suas espécies caracteriza-se pela presença de hipoderme, estômatos do tipo paracítico e paralelocítico, epiderme adaxial papilosa, mesofilo geralmente dorsiventral e ocorrência frequente de domácias (METCALFE & CHALK, 1979). O gênero *Psychotria* L. possui 2.000 espécies, sendo o maior da tribo Psychotrieae e da família Rubiaceae, além de ser o maior gênero de espécies lenhosas (TAYLOR *et al.*, 2007). É considerado taxonomicamente complexo devido ao tamanho e também, à ausência de caracteres morfológicos disponíveis para a definição dos grupos (NEPOKROEFF *et al.* 1999).

O estudo anatômico de órgãos vegetativos das Angiospermas é uma ferramenta utilizada pela taxonomia para a identificação de material vegetativos, e para indicar as relações entre os táxons (METCALFE; CHALK, 1950).

Alguns trabalhos descreveram a morfo-anatomia foliar de algumas espécies da família Rubiaceae, como *Palicouera longepedunculata* Gardiner (PEREIRA *et al.*, 2003), *Tocoyena bullata* (Vell.) Mart (VIEIRA, 1988), *Bathysa stipulata* (Vell.) Presl. (NASCIMENTO *et al.*, 1996), *Melanopsidium nigrum* Colla (OLIVEIRA *et al.*, 2003) e espécies do gênero *Rondeletia* (KOCSIS *et al.*, 2004). Entre os estudos anatômicos do gênero *Psychotria* sobressaem-se, a anatomia foliar de *Psychotria nuda*, *Psychotria leiocarpa* Mart, *Psychotria tenuinervis* Mill. Arg., *Psychotria stenocalyx* Miill. Arg., *Psychotria hoffmannseggiana* e *Psychotria viridis* Ruiz & Pav (VIEIRA *et al.*, 1992; CUNHA; VIEIRA, 1993/97; GOMES *et al.*, 1995; QUINTEIRO *et al.*, 2006; PIETROBOM, *et al.*, 2011). Já estudos anatômicos do caule para espécies da família Rubiaceae são escassos, entretanto algumas características anatômicas são mencionadas por Metcalfe e Chalk (1950) para a família e por Assis e Giulietti (1999) para *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes.

Entretanto, a organização e as características estruturais dos vegetais são relacionadas com as condições ambientais a qual estes são submetidos, ou seja, diferentes condições nutricionais, disponibilidade de água, intensidade luminosa e temperatura, exercem influência sobre as estruturas internas dos órgãos vegetais. Essas modificações estruturais, juntamente com mecanismos fisiológicos, possibilitam a sobrevivência das espécies sobre diferentes condições ambientais, sendo essas adaptações principalmente observadas nas folhas, as quais podem apresentar, dentro da mesma espécie, diferentes características como variação no tamanho, densidade de tricomas, acúmulo de mucilagem e alteração da compactação do mesofilo (MARSCHNER, 1995; BOSABALIDIS; KOFIDIS, 2002).

Para a propagação vegetativa, os conhecimentos anatômicos são importantes, pois a identificação dos aspectos estruturais é fundamental para o sucesso da técnica, a qual depende da regeneração de tecidos vegetais e onde a escolha do material a ser propagado depende do conhecimento das potencialidades e obstáculos de seus tecidos (SILVA *et al.*, 2005).

Sendo assim, o conhecimento da estrutura interna do caule da espécie utilizada na estaquia é de grande importância, por permitir desvendar o sucesso ou insucesso do enraizamento que, em alguns casos, pode ocorrer: pela presença de barreiras anatômicas à emergência dos primórdios radiciais, ou seja, desenvolvimento de fibras e esclereídes, formando um anel contínuo na região cortical do caule; pela presença de compostos fenólicos, os quais podem estimular ou inibir a formação de raízes; e pela quantidade de carboidratos, que normalmente, apresentam relação positiva com o enraizamento (LIMA *et al.*, 2011; HARTMANN *et al.*, 2011).

A formação de raízes adventícias em estacas ocorre por meio de modificações morfológicas e fisiológicas complexas (CARVALHO *et al.*, 2007), sendo o início do processo ocorrendo pela desdiferenciação das células adultas, ou seja, a capacidade das células diferenciadas e desenvolvidas iniciarem divisões celulares e formarem um novo ponto de crescimento meristemático. E ainda que todas as plantas apresentarem capacidade de regenerar órgãos a partir de células indiferenciadas verifica-se que essa característica é acentuada em algumas células e em algumas partes da planta (FACHINELLO *et al.*, 2005; HARTMANN *et al.*, 2011). Tanto em plantas arbóreas como em arbustos ocorrem dois modos distintos de formação de raízes adventícias, denominados desenvolvimento direto e indireto, no primeiro o primórdio radicial tem origem de células do sistema vascular ou de células próximas a ele, e no segundo a origem ocorre pela proliferação de um tecido indiferenciado, chamado de calos, antes da formação do primórdio radicial (ALTAMURA, 1996).

Nesse contexto, pesquisas sobre a estrutura anatômica de folhas e caules de *Psychotria nuda* podem servir como subsídios para estudos taxonômicos, além de contribuir para o conhecimento de sua relação com o ambiente no qual se desenvolve. Adicionalmente, ainda são poucos os estudos acompanhando o desenvolvimento do primórdio radicial, desde as primeiras divisões até a emergência das raízes adventícias, além da ausência de informações na literatura sobre as modificações anatômicas no processo de formação adventícia de raízes para espécies do gênero *Psychotria*.

Sendo assim, os objetivos deste capítulo foram: 1) descrever e analisar as características anatômicas de folhas e caule da espécie, que poderão servir de subsídio para a taxonomia do gênero, bem como indicar as estratégias adaptativas da espécie, tipicamente encontrada em sub-bosque de florestas tropicais, relacionando as características estruturais com o ambiente de desenvolvimento da planta matriz; 2) observar e caracterizar a formação e origem das raízes adventícias e de calos em estacas, assim como identificar possíveis barreiras anatômicas ao desenvolvimento radicial, visando um melhor entendimento do processo de propagação vegetativa da espécie.

## 4.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1. Caracterização do local e coleta e do material vegetal

A coleta do material vegetal utilizado no estudo anatômico foi realizada na Reserva Natural do Morro da Mina localizada no litoral paranaense próximo às coordenadas UTM 7189000 N e 72300 E (DATUM SAD 69), município de Antonina-PR. A Reserva pertence à Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental - SPVS, abrangendo uma área de 3.300 ha. A área apresenta trechos da encosta da Serra do Mar e da planície litorânea, chegando até a baía de Antonina (SPVS, 2010) (Anexo 1). O clima da região, pelo Sistema Internacional de Köppen, é do tipo Cfa, isto é, caracterizado como subtropical com temperatura média do mês mais frio inferior a 18°C (mesotérmico) e temperatura média do mês mais quente acima de 22°C, com verões quentes, geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, contudo sem estação seca definida (IPARDES, 2001).

O material vegetal utilizado foi proveniente de plantas matrizes adultas de *Psychotria nuda*, a qual foi tombada no Herbário Fernando Cardoso da Silva, pertencente ao Laboratório de Ecologia Aplicada da Embrapa Florestas (Colombo-PR), sob o nº HFC8875. As matrizes encontravam-se localizadas no subosque de dois ambientes distintos da Floresta Ombrófila Densa (FOD). O primeiro ambiente apresenta vegetação classificada como Floresta Ombrófila Densa Submontana e está localizado em um trecho de encosta, apresentando terreno inclinado e solo tipo Cambissolo Háplico Tb distrófico típico (Anexo 2 - A). O segundo ambiente apresenta Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas e está localizado na planície litorânea, a qual apresenta relevo plano e solo classificado como associação Neossolo Flúvico Tb distrófico gleissólico + Neossolo Flúvico Tb distrófico típico (Anexo 2 - B). Para cada tipo de ambiente foi designado um nome de referência com o objetivo de facilitar sua identificação no decorrer do trabalho: o primeiro ambiente foi denominado como encosta e o segundo como planície.

Das plantas matrizes foram coletados ramos formados na última fase de crescimento (brotação do ano) em março de 2010 (verão), época em que se inicia a redução da atividade vegetativa da espécie (Anexo 8 - B). A partir dos ramos realizou-se a confecção de estacas caulinares, as quais receberam tratamento fitossanitário com hipoclorito de sódio a 0,5% por 10 minutos de imersão (ação bactericida), sendo, em seguida, lavadas em água corrente por 5 minutos. O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno, contendo vermiculita de

granulometria média e casca de arroz carbonizada como substrato, numa proporção de 1:1(v/v), e posteriormente mantidas em casa de vegetação com umidade e temperatura controlada ( $\pm 90\%$  UR,  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ) do Laboratório de Macropropagação do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba-PR (Anexo 10).

Amostras de folha e da base de cinco estacas, provenientes dos dois ambientes de coleta (encosta e planície), foram coletadas no momento da instalação da estaquia, com a finalidade de caracterizar anatomicamente as estacas provenientes de matrizes em diferentes ambientes de desenvolvimento. Após 60 dias da instalação do experimento foram coletadas amostras da base de cinco estacas que apresentavam as seguintes características: 1) estaca enraizada sem a formação de calos (Anexo 14 - F), 2) estacas somente com a formação de calos (Anexo 14 - B) e 3) estacas enraizadas e com presença de calos (Anexo 14 - D), visando observar e caracterizar a formação e origem das raízes adventícias e dos calos.

As amostras com cerca de 2 cm foram fixadas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e álcool etílico) (JOHANSEN, 1940), por 24 horas e posteriormente armazenadas em álcool 70 % até o início dos procedimentos de confecção das lâminas anatômicas, realizados no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR.

#### **4.2.2. Procedimentos anatômicos**

As amostras destinadas à preparação das lâminas semipermanentes foram incluídas em polietilenoglicol 1500 e álcool 70% na proporção de 1:1, por 24 horas em frascos fechados em estufa a  $60^\circ\text{C}$ . Após esse período, os frascos foram destapados e deixados por mais 48 horas para finalizar o processo de infiltração. Posteriormente, as amostras foram colocadas em moldes de papel e mantidas em refrigerador para facilitar a solidificação dos blocos, os quais, em seguida, foram seccionados em cortes transversais de  $20\ \mu\text{m}$  utilizando micrótomo rotatório Olympus CUT 4055. Para a confecção das lâminas das amostras foliares, além das secções transversais, foram realizados cortes manuais paradérmicos visando à caracterização dos estômatos.

Todas as secções transversais obtidas foram submetidas à coloração com safrablau (safranina e azul de astra), adicionalmente os cortes transversais de caule das estacas caulinares foram submetidos à testes histoquímicos com lugol, para a identificação de amido, e com sudan III, para verificação de substâncias lipídicas. Para os cortes paradérmicos das folhas foi utilizado o corante azul de toluidina (KRAUS; ARDUIM, 1997). Partes das secções destinadas à coloração com safrablau passaram por um tratamento clarificante com

hipoclorito de sódio a 20%, sendo, em seguida, lavados em água destilada, visando uma melhor visualização das paredes celulares.

Após o processo de coloração, as secções foram montadas em lâminas semipermanentes, em gelatina-glicerinada, as quais foram utilizadas para o estudo anatômico. Para a documentação dos resultados foram realizadas fotomicrografias em microscópio Zeiss com câmera digital Sony Cyber-Shot P200 acoplada e em fotomicroscópio Olympus BX 40, com câmera de captura de imagem modelo DP071, as quais foram acrescidas de escalas em condições ópticas adequadas a cada caso (Anexo 20).

As classificações estruturais utilizadas seguiram as recomendações de Metcalfe e Chalk (1979) para os estômatos, de Howard (1979) para o sistema vascular e de Leaf Architecture Working Group (1999) para a descrição morfológica.



### 4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1. Caracterização anatômica das bases das estacas

As secções transversais das bases das estacas coletadas de árvores de *Psychotria nuda* localizadas em diferentes ambientes de desenvolvimento não apresentaram diferenças marcantes em relação a sua estrutura interna, somente a presença de cristais prismáticos se mostrou diferenciada. Em caules retirados de plantas localizadas na encosta verificou-se visualmente maior quantidade de cristais prismáticos comparado a caules de plantas localizadas na planície. Devido à pequena diferença estrutural entre os dois tipos de materiais, a descrição da estrutura interna foi realizada de maneira geral, ou seja, desconsiderando o ambiente de desenvolvimento das matrizes de onde foram retiradas as amostras.

Analizando as secções coletadas antes a instalação da estaquia (Figura 2.1-A), foi possível observar que o caule apresenta epiderme unisseriada com deposição de cutícula espessa. A região cortical é composta externamente por cerca de cinco camadas de parênquima regular com cloroplastos e ausência de espaços intercelulares, seguido de oito camadas de colênquima angular e mais internamente composto por cerca de cinco camadas de células de parênquima com pequenos espaços intercelulares, finalizando na endoderme, camada mais interna do córtex, a qual é unisseriada com presença de estrias de Caspary (Figura 2.1-C). Esclereídes isolados estão presentes em toda a extensão do córtex.

A ocorrência de endoderme com estrias de Caspary nas raízes é bem conhecida, mas são poucos os trabalhos que relatam a sua presença em outros órgãos aéreos das plantas (Lersten, 1997). Em angiospermas, Metcalfe e Chalk (1950) listaram 25 famílias de dicotiledôneas nas quais ocorre endoderme no caule. Na família Rubiaceae, a endoderme no caule foi observada em *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes por Assis e Giulietti (1999), os quais informam que até então não havia relatos sobre a presença de endoderme em espécies da família.

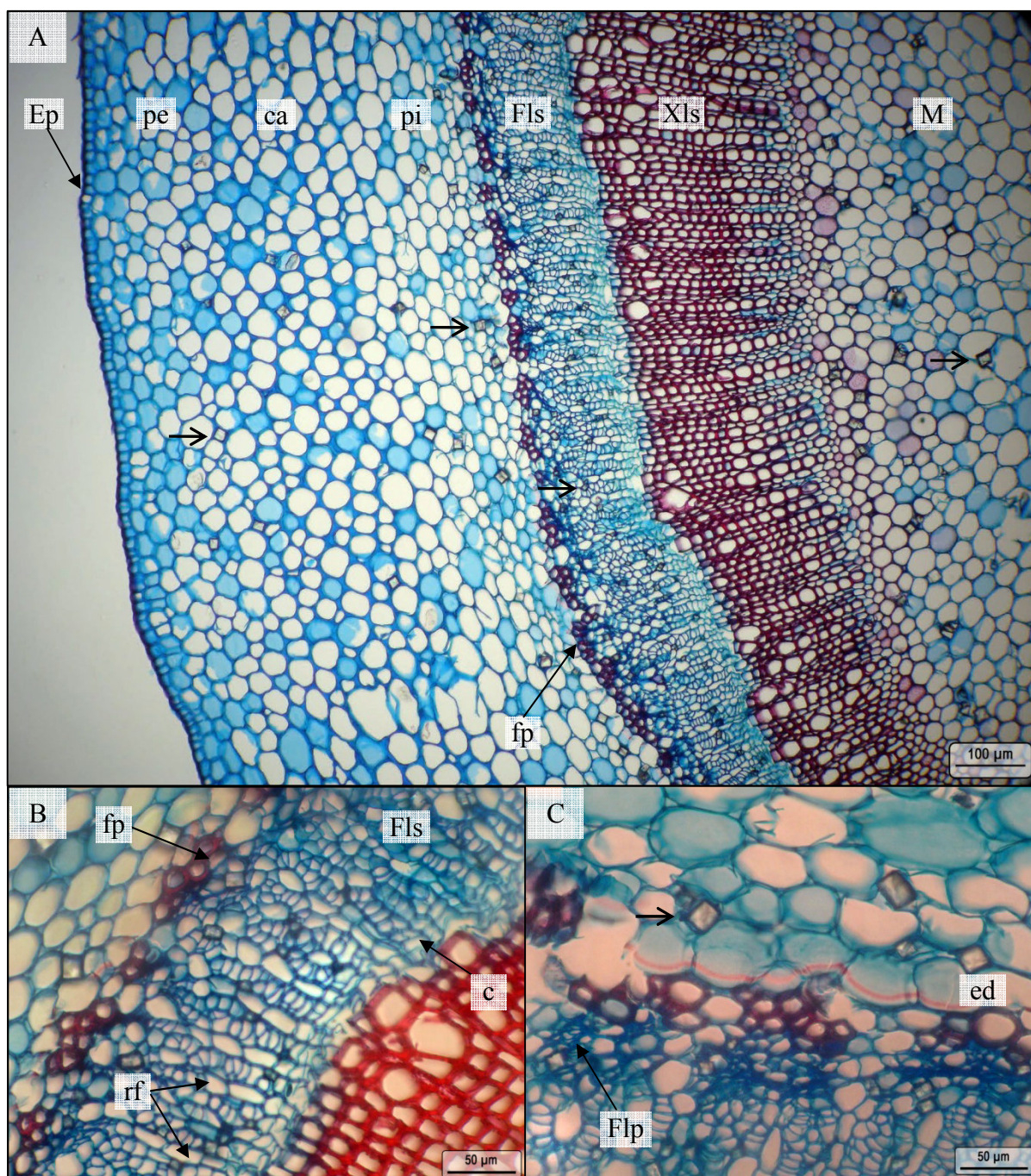


FIGURA 2.1- Secções transversais de caule de *Psychotria nuda* clarificadas e coradas com safrablau. (A) - Vista geral periférica do corte; (B) - Detalhe evidenciando o tecido vascular; (C) - Detalhe da endoderme e estria de Caspary. **Ep** - epiderme; **pe** - parênquima externo; **ca** - colênquima angular; **pi** - parênquima interno; **fp** - fibras perivasculares; **ed** - endoderme; **Flp** - floema primário; **Fls** - floema secundário; **rf** - raios floemáticos; **c** - câmbio; **Xls** - xilema secundário; **M** - medula; → - cristais prismáticos.

O cilindro central é delimitado externamente por periciclo fibroso descontínuo. Internamente ao periciclo observa-se remanescente do floema primário, além do câmbio vascular, floema e xilema secundários contínuos e visíveis, indicando que o caule encontra-se em crescimento secundário inicial. O floema secundário, com elementos de tubo crivado e células companheiras visíveis, apresenta parênquima axial e radial estreito, o qual se diferencia das maiorias das espécies que possuem floema na forma de leque. Internamente ocorre a presença do câmbio vascular contínuo e com cerca de três camadas de células. Posteriormente, encontra-se o xilema secundário com elementos vaso isolados ou em grupos radiais, grande quantidade de fibras e raios discretos, seguido por xilema primário e medula (Figura 2.1-A, B, C).

As espécies da família Rubiaceae frequentemente apresentam elementos de vasos estreitos e pequenos (METCALFE; CHALK 1950), como observado por Assis e Giulietti (1999) para *Psychotria ipecacuanha*, onde os elementos de vaso apresentavam diâmetros praticamente iguais aos das fibras do xilema. Entretanto, no presente estudo, os elementos de vaso observados são maiores em relação às fibras presentes no tecido.

A medula (Figura 2.2-A, B) é parenquimática com células isodiamétricas e esclereídes isoladas ou formando pequenos grupos. A presença de esclereídes na medula é um indicativo de que com o desenvolvimento do tecido a medula se torne esclerificada.

Estudos sobre a estrutura interna do caule para espécies da família Rubiaceae são escassos. Algumas características anatômicas são mencionadas para família como epiderme unisseriada, fibras isoladas no periciclo e xilema contínuo apresentando elementos condutores na sua maioria solitários (METCALFE; CHALK, 1950), as quais foram observadas no presente estudo para *Psychotria nuda* e também verificadas para *Psychotria ipecacuanha* em estudo anatômico realizado por Assis e Giulietti (1999).



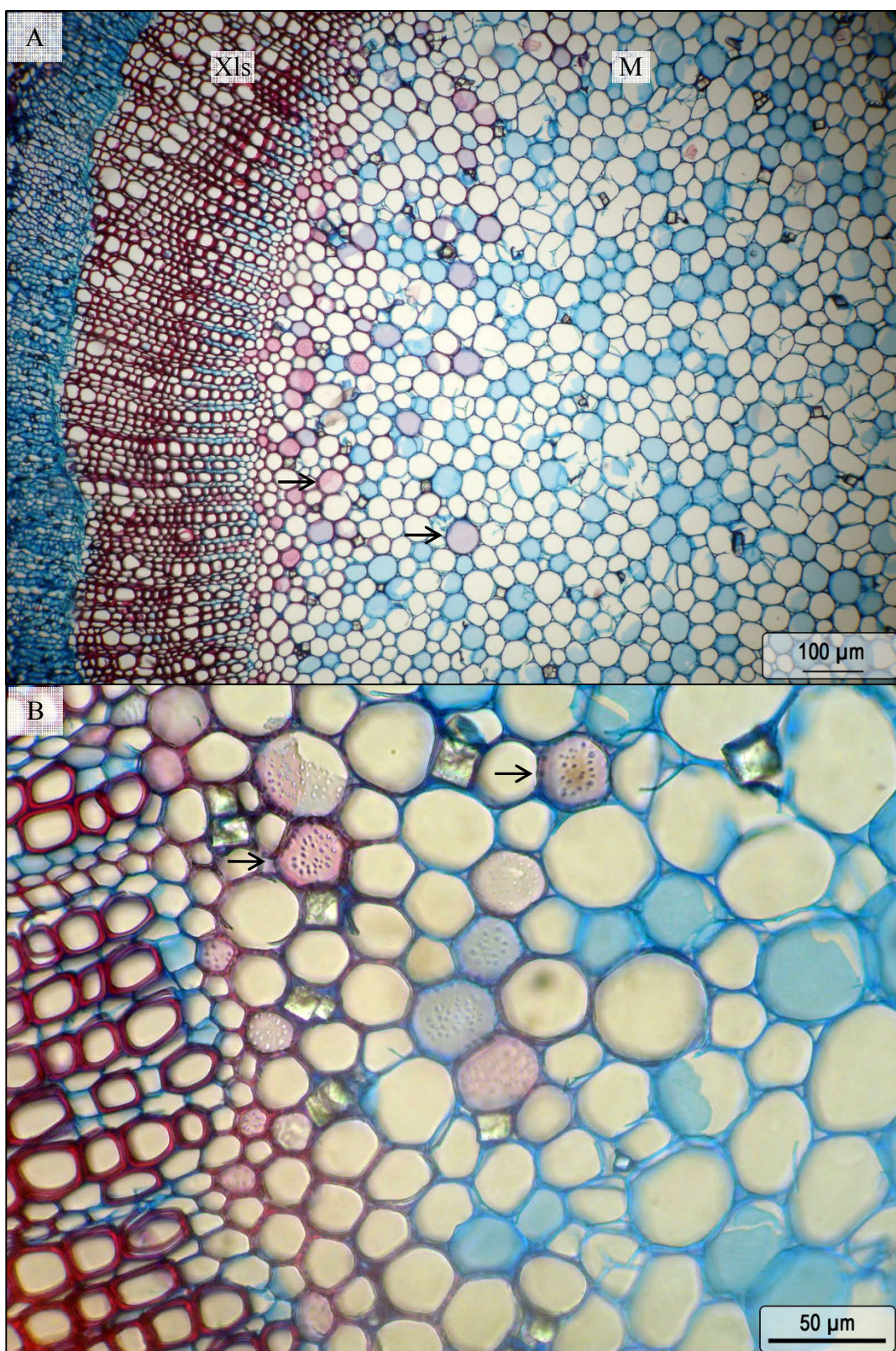


FIGURA 2.2 - Secções transversais de caule de *Psychotria nuda* clarificadas e coradas com safrablau. (A) - Vista geral interna do corte; (B) - Detalhe evidenciando a medula e esclereídes isolados e formando pequenos grupos. M - medula; Fls - floema secundário; Xls - xilema secundário; → - esclereídes.

Por meio do teste histoquímico com lugol não foi evidenciada a presença de grãos de amido nas secções transversais de estacas caulinares de *Psychotria nuda*. Esse fato ocorreu devido a época de coleta das amostras (verão), onde as matrizes encontravam-se no início da redução da atividade vegetativa, além da presença de frutos e flores em várias etapas de desenvolvimento (Anexo 4 - B). Possivelmente, o açúcar produzido foi consumido pelos drenos existentes nessa época. Ferriani *et al.* (2008), trabalhando com *Piptocarpha angustifolia* Dusén, também verificou a ausência de amido no verão, época em que a espécie estudada estava em período de floração.

Com o teste histoquímico com sudan III pode-se verificar a deposição de substâncias lipídicas nas paredes periclinais externas das células epidérmicas (Figura 2.3-B). Adicionalmente, o teste evidenciou deposição de lamelas lipídicas recobrimdo as paredes que delimitam a cavidade que contém cristais de oxalato de cálcio com formas prismáticas, ocorrendo isolados ou em pequenos grupos (Figura 2.3-C, D, E, F). Estes estão presentes na maioria dos tecidos, e devido à lamela lipídica sua visualização, em secções coradas com sudan III, se torna facilitada (Figura 2.3-A). Os cristais são encontrados no córtex, em maior concentração no parênquima interno, nos raios do floema e na da medula. Além dos cristais prismáticos, areias cristalinas são encontradas em menor quantidade e estão presentes no interior das células do córtex e da medula. É comum a ocorrência de cristais de oxalato de cálcio em todos os órgãos das Rubiaceae (METCALFE; CHALK, 1950).

Cristais de oxalato de cálcio são produzidos por muitas plantas e animais, nesses últimos geralmente são considerados produtos patológicos e extracelulares, enquanto que nas plantas são tipicamente formados no interior de células especializadas denominadas idioblastos e estão ligados a muitas necessidades da espécie, como regulação do cálcio, na manutenção do equilíbrio iônico, na proteção contra o ataque de herbívoros e até mesmo de captação de luz e de reflexão (MOLANO-FLORES, 2001; NAKATA, 2003; FRANCESCHI; NAKATA, 2005).

Os cristais de oxalato de cálcio são formados a partir do ácido oxálico sintetizado endogenamente e do cálcio (Ca) absorvido da solução do solo em contato com as raízes. O ácido oxálico ( $C_2H_2O_4$ ) é o mais simples dos ácidos dicarboxílicos, e possui a capacidade de se complexar com o Ca e formar cristais altamente insolúveis, os quais possuem uma alta gama morfológica. Dentre as principais formas têm-se os monocristais, que podem ser prismáticos ou romboédricos, os quais podem ser únicos por célula ou múltiplos; cristais estiloídes, apresentando forma alongada; ráfides, com forma acicular; areias cristalinas e drusas, podendo ocorrer isoladamente ou em grupos (FRANCESCHI; NAKATA, 2005).

Analisando os cristais prismáticos, sua ocorrência se dá entre as células nos espaços intercelulares; entretanto observando mais detalhadamente, em alguns cristais pode-se verificar a existência de resíduos da parede celular. Sendo assim, uma possível hipótese para a formação do cristal é que inicialmente o cálcio é precipitado no vacúolo de idioblastos, uma vez que é o processo frequentemente observado para as plantas e verificado em espécies de *Psychotria* (VIEIRA *et al.*, 1992; CUNHA; VIEIRA, 1993/97; GOMES *et al.*, 1995; FRANCESCHI; NAKATA, 2005; QUINTEIRO *et al.*, 2006).

O processo de desenvolvimento do cristal no interior de células especializadas apresenta uma coordenação notável entre o crescimento do cristal e a expansão celular, ou seja, o aumento do cristal é cuidadosamente regulado para coincidir com a taxa de crescimento da célula. Kostman e Franceschi (2000), estudando ráfides em alface d'água, observaram que os cristais crescem bidirecionalmente no vacúolo em coordenação com o alongamento da célula, as quais atingem um comprimento cinco vezes maior que as células típicas do mesófilo. Entretanto, essa coordenação, aparentemente, não ocorre em *Psychotria nuda*, pois os cristais observados não estão no interior das células e sim nos espaços intercelulares apresentando resíduos da parede celular (Figura 2,3-D, E), indicando que o cristal apresenta crescimento mais rápido que a célula, ou continua seu desenvolvimento após o término do crescimento celular, ocasionando a morte da célula. Franceschi e Nakata (2005) relatam a ocorrência desse fenômeno no desenvolvimento do caule de *Myriophyllum spicatum* L.

Sendo assim, a deposição de substâncias lipídicas provavelmente ocorre nas paredes celulares das células que continham o cristal, sendo visível nos resíduos remanescentes após a morte celular em teste histoquímico com sudan III. Entretanto a função da deposição de lipídios recobrindo o cristal não foi elucidada, uma vez que não foram encontrados na literatura relatos sobre essa estrutura.



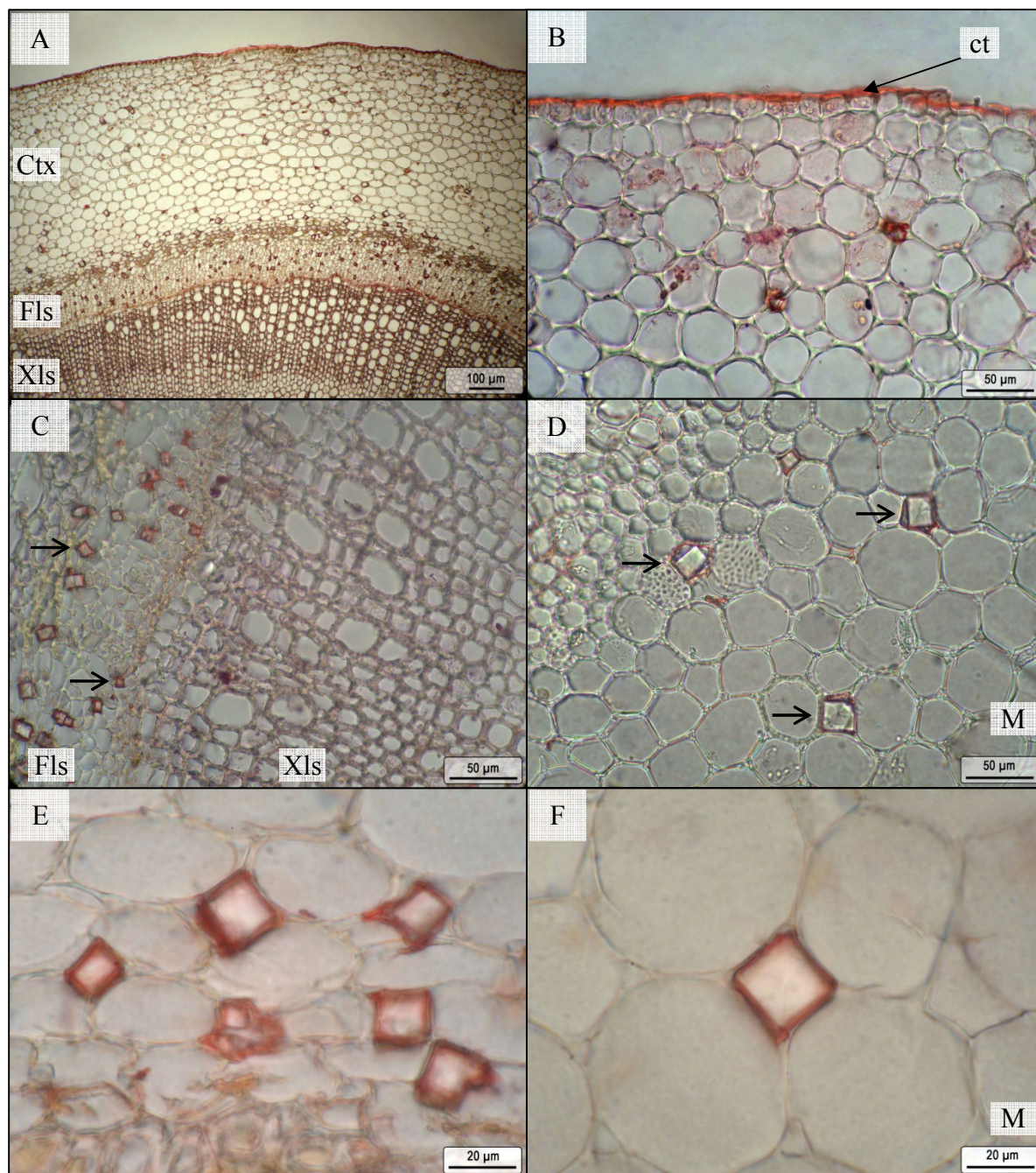


FIGURA 2.3 - Secções transversais de caule de *Psychotria nuda* coradas com sudan III. (A) - Vista geral externa do corte; (B) - Detalhe da deposição de cutícula nas células epidérmicas; (C) - Corte evidenciando cristais prismáticos nos espaços intercelulares do floema secundário; (D) - Cristais prismáticos formando pequenos grupos na medula; (E, F) - Detalhe dos cristais prismáticos no parênquima interno e medula respectivamente, evidenciando deposição de lamela lipídica recobrando a cavidade. Ctx - córtex; M - medula; Fls - floema secundário; Xls - xilema secundário; → - cristais prismáticos.

#### 4.3.2. Caracterização anatômica das folhas

As folhas de *Psychotria nuda* são hipoestomáticas com estômatos paracíticos, situados no mesmo nível das demais células epidérmicas. A epiderme na face abaxial, em secção paradérmica, apresenta células de tamanhos variados com paredes anticlinais levemente onduladas a retas (Figura 2.4-A, B). Essa característica foi observada por Vieira *et al.* (1992) em plantas de sombra da mesma espécie e para *Psychotria leiocarpa* e por Oliveira *et al.* (2003) para *Melanopsidium nigrum*. Entretanto, Pereira *et al.* (2003) encontraram células epidérmicas da face abaxial das folhas de sombra de *Palicouera longepedunculata* (Rubiaceae) com contorno sinuoso. Metcalfe e Chalk (1950) citam que na família Rubiaceae as paredes das células epidérmicas podem ser retas ou sinuosas.

A presença de contorno sinuoso nas paredes anticlinais das células epidérmicas em folhas de plantas sob condição de sombreamento foi descrito por Isanogle (1944). Contestando tal conceito, Vieira (1988) observou em plantas de sol de *Tocoyena bullata* (Rubiaceae) paredes anticlinais da face abaxial com contorno sinuoso. Assim, acredita-se que outros fatores, além da luz, possam influenciar a expressão deste caráter. Comumente, em plantas de sol e de ambientes xéricos, as células epidérmicas, especialmente as da face adaxial, apresentam contorno reto. Já nas plantas de sombra, a ocorrência de células com contorno sinuoso, em ambas as faces da folha, é mais frequente (METCALFE; CHALK, 1979).

Estômatos paracíticos, distribuídos apenas na face abaxial, foram descritos por Metcalfe e Chalk (1950) como sendo o tipo de estômato mais frequente para a família Rubiaceae, sendo que sua localização na face abaxial das folhas tem sido relatada, em geral, para plantas de ambientes sombreados (SMITH *et al.*, 1997). Adicionalmente, folhas hipoestomáticas são corriqueiras em espécies das florestas pluviais e estacionais tropicais, e tal fato pode representar uma proteção contra o recobrimento e, consequentemente, inativação das fendas estomáticas por pequenos musgos, hepáticas e fungos, comuns nesse ambiente (COUTINHO, 1962).

Essa evidência foi confirmada no presente estudo, pois as plantas matrizes na época de coleta apresentavam microorganismos na superfície das folhas. Essa observação também foi realizada por Vieira e Gomes (1995), estudando a superfície laminar de *Psychotria nuda*, os quais relatam a presença de hifas de fungos distribuídas pela superfície foliar, sendo justificada, pelos autores, pelo ambiente úmido de estudo, o qual proporcionou condições adequadas para o estabelecimento da flora micológica.



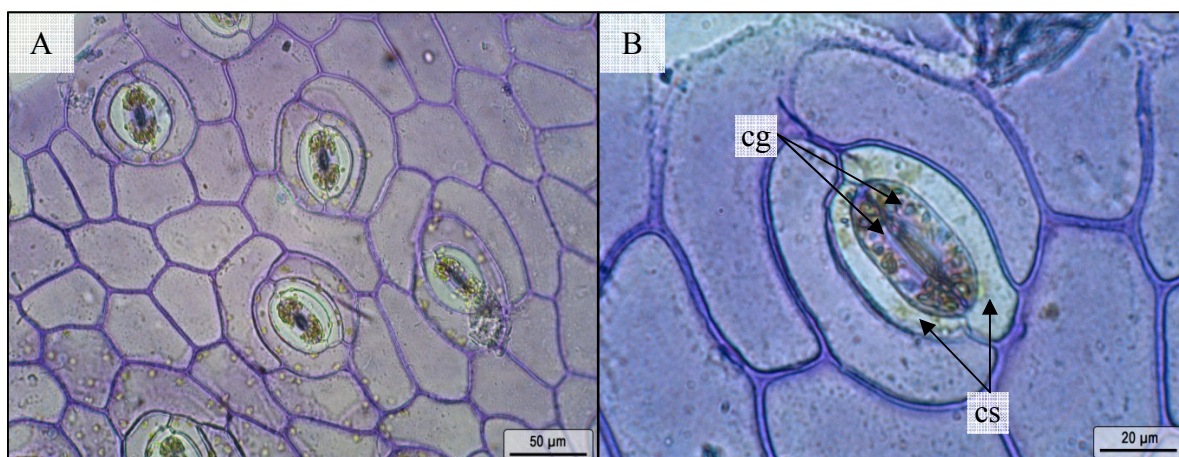


FIGURA 2.4 - Secções paradérmicas da epiderme abaxial de folhas de *Psychotria nuda* coradas com azul de toluidina. **(A)** - Vista geral da distribuição dos estômatos; **(B)** - Detalhe dos estômatos paracíticos. **cg** - células guarda; **cs** - células subsidiárias.

As secções transversais de folhas coletadas de árvores localizadas em diferentes ambientes de desenvolvimento apresentaram algumas diferenças em relação a sua estrutura interna. Sendo assim, quando necessário, a descrição anatômica foi realizada levando em consideração tais diferenças.

Independente da amostra, a lâmina foliar, em secção transversal, possui epiderme na face abaxial e adaxial unisseriada, com algumas células divididas periclinalmente (Figura 2.5-A, B, C, D). Em reação com sudan III, observa-se deposição delgada de lipídios na parede periclinal externa das células epidérmicas (cutícula) em ambas as faces da folha, sendo mais evidente na região da nervura central e nos bordos e, comparando as camadas epidérmicas, nota-se maior deposição na parede adaxial do que na face abaxial (Figura 2.6-A, B, C, D). Adicionalmente, observa-se deposição de lamelas lipídicas recobrendo as paredes que delimitam a cavidade que contém cristais prismáticos, característica esta anteriormente descrita na caracterização do caule (Figura 2.6-E, F).

A presença de cutícula delgada em ambas as faces da folha também foi encontrada por Pereira *et al.* (2003) para *Palicouera longepedunculata*, a qual é característica de estratos inferiores da floresta como a espécie *Psychotria nuda*, confirmando assim, o fato que espécies que se desenvolvem sobre baixa luminosidade apresentam cutículas delgadas enquanto espécies de sol tendem a apresentar maior deposição de cutícula como forma de proteção a alta incidência luminosa (TAIZ; ZEIGER, 2010).

O mesofilo é classificado como dorsiventral com parênquima paliádico bisseriado ou trisseriado na região adaxial, apresentando células em forma de cone invertido e parênquima

lacunoso na região abaxial com grandes espaços intercelulares, ambos com células de parede delgada. As folhas provenientes de árvores localizadas na encosta apresentam parênquima paliçádico predominantemente bisseriado e parênquima lacunoso com sete camadas de células. Nas folhas de árvores localizadas na planície ocorre a predominância de parênquima paliçádico trisseriado e lacunoso com nove camadas de células (Figura 2.5-A, B, C, D).

A classificação dorsiventral do mesófilo corresponde ao padrão característico para a família Rubiaceae (METCALFE; CHALK, 1950). O número de camadas de parênquima paliçádico é maior nas folhas de sol do que nas de sombra (TAIZ; ZEIGER, 2010). Esse fato pode justificar a predominância de parênquima paliçádico trisseriado no ambiente planície, o qual apresenta maior penetração da luz no interior do subosque, comparado com o ambiente encosta que apresenta parênquima paliçádico predominantemente bisseriado. A maior penetração luminosa no interior do perfil vegetacional da planície é decorrente de seu estágio de desenvolvimento, classificado como médio avançado, enquanto a vegetação do ambiente encosta apresenta desenvolvimento avançado.

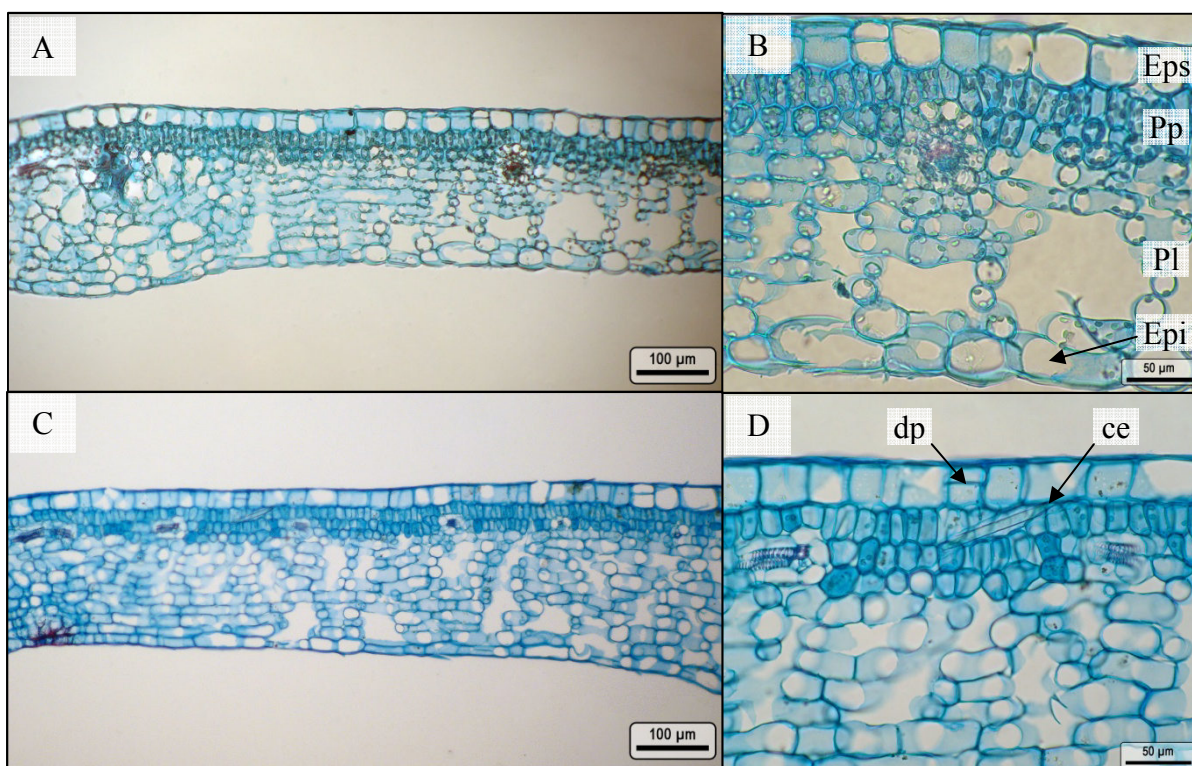


FIGURA 2.5 - Secções transversais do mesófilo das folhas de *Psychotria nuda* coradas com safrablau. (A, B) - Vista geral e detalhe do mesófilo de folhas provenientes de matrizes localizadas na encosta; (C, D) - Vista geral e detalhe do mesófilo de folhas oriundas de matrizes localizadas na planície. **Eps** - epiderme adaxial; **Pp** - parênquima paliçádico; **Pl** - parênquima lacunoso; **Epi** - epiderme abaxial; **dp** - divisão periclinal; **ce** - cristal estilóide.

Nos bordos da lâmina foliar nota-se progressiva redução no diâmetro das células epidérmicas unisseriadas, sendo ligeiramente recurvado em direção face abaxial, apresentando parênquima com células isodiamétricas aclorofiladas e na proximidade dessa região está presente o parênquima paliádico e lacunoso (Figura 2.6-D).

Cristais prismáticos foram encontrados no córtex da nervura central e na lâmina foliar (Figura 2.6-A, C, E), além de idioblastos localizados no mesofilo da lâmina foliar composto por um cristal estiloide grande e solitário (Figura 2.5-D). A presença de cristais estiloídes são estruturas utilizadas para o diagnóstico do gênero *Psychotria* (METCALFE; CHALK, 1979).

Nas folhas, os cristais prismáticos estão em menor quantidade quando comparados ao caule, concentrando-se principalmente nos espaços intercelulares do floema e do parênquima da nervura central. Como observado nas secções transversais do caule, as folhas de matrizes que se desenvolvem no ambiente encosta possuem, visualmente, maior quantidade de cristais quando comparadas às secções de folhas oriundas de matrizes com desenvolvimento na planície. Uma das funções dos cristais de oxalato de cálcio, descrita na literatura, é na regulação da luz durante a fotossíntese em plantas que se desenvolvem em ambientes sombreados (NAKATA, 2003; FRANCESCHI; NAKATA, 2005). Souza e Marquete (2000) observaram cristais do tipo drusas em tecidos subepidérmicos foliares, como estratégia de adaptação anatômica relacionada ao ambiente em duas espécies de Melastomataceae de locais sombreados. Estas estruturas aumentam o aproveitamento da luz, ampliando-a. Entretanto, mesmo não estando diretamente relacionadas aos processos metabólicos da fotossíntese, respiração e crescimento, proporcionam às plantas um sucesso adaptativo e uma defesa, face às pressões ambientais.

Adicionalmente, sua distribuição, ou o tipo de cristal pode ser utilizado como um caráter taxonômico. Os cristais classificados como ráfides, drusas, estiloide e prismáticos foram descritos em espécies de *Psychotria* (VIEIRA *et al.*, 1992; CUNHA; VIEIRA, 1993/97; GOMES *et al.*, 1995; QUINTEIRO *et al.*, 2006).



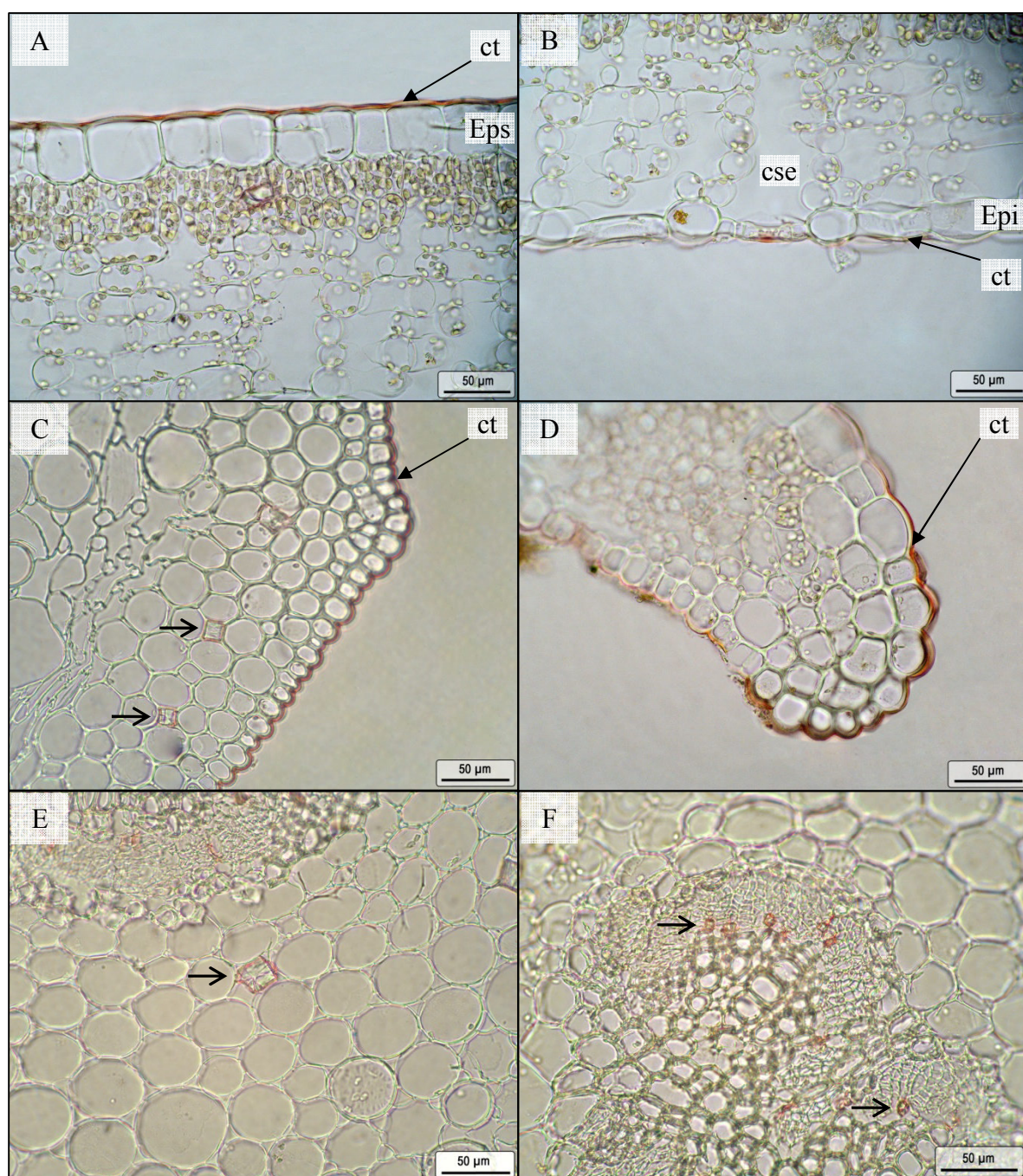


FIGURA 2.6 - Secções transversais de folhas de *Psychotria nuda* coradas com sudan III. (A) - Deposição de lipídios nas paredes periclinais externas da epiderme adaxial; (B) - Deposição de lipídios nas paredes periclinais externas da epiderme abaxial e detalhe da câmara subestomática; (C, D) - Detalhe da cutícula na região da nervura central face abaxial e nos bordos respectivamente; (E, F) - Detalhe de cristais prismáticos com evidencia da lamela lipídica distribuídos no parênquima da região abaxial da nervura e no floema do feixe vascular. **ct** - cutícula; **Eps** - epiderme adaxial; **Epi** - epiderme abaxial; **cse** - câmara subestomática; → - cristais prismáticos.

A região da nervura central de *Psychotria nuda*, em secção transversal, apresenta epiderme adaxial e abaxial unisseriada, tecido parenquimático envolvendo o feixe vascular com duas regiões laterais ao feixe de aerênquima com células braciiformes e esclereides isolados (Figura 2.7-A, B, C, D). O tecido de sustentação está representado por colênquima angular, presentes na região adaxial e abaxial, sendo mais evidente nesta última e por fibras perivasculares na periferia do floema. O sistema vascular é classificado como colateral e em forma de “U” com os bordos recurvados, sendo acompanhado por dois feixes laterais menores que nas regiões mais apicais da folha não estão presentes. Na região adaxial do feixe vascular ocorre parênquima clorofiliano contínuo (Figura 2.7-E ,F).

Tal padrão de sistema vascular, também foi relatado por Vieira *et al.* (1992) para a mesma espécie, além de ser observado para outras espécies do mesmo gênero como *Psychotria tenuinervis* , *Psychotria stenocalyx* e *Psychotria leicarpa* (VIEIRA *et al.*, 1992; GOMES *et al.*, 1995). De acordo com Martínez-Cabrera *et al.* (2009), o arranjo de tecido vascular é um caractere de diagnóstico que pode ser utilizada a nível gênero. Os mesmos autores afirmaram que a distribuição do sistema vascular em forma de arco, em forma de um “U” com extremidades curvas e 1-2 pares de feixes acessório é única para *Psychotria*, e nunca foi descrita para os outros membros da família. Entretanto, o trabalho de Moraes *et al.* (2011), os quais realizaram estudo anatômico de sete espécies de *Psychotria*, descreveu outras formas do sistema vascular, além de encontrar espécies com ausência de extremidades curvas e número de feixes acessórios diferentes dos relatados para o gênero. Assim, os autores sugerem que a organização do sistema vascular de um arco em forma de V, as extremidades curvas da nervura principal, e 1-2 feixes acessórios não são diagnósticos para o gênero *Psychotria*.

O feixe vascular em forma de “U” com bordos recurvados foi descrito para *Tocoyena bullata*, onde as extremidades dos feixes aproximam-se progressivamente até se encontrarem, formando um círculo na região do terço basal da lâmina foliar (Vieira, 1988). Feixe vascular na forma de círculo foi observado por Nascimento *et al.* (1996), para *Bathysa stipulata*. No presente estudo não foi visualizado feixe vascular em círculo no terço basal da lamina foliar, uma vez que os cortes foram realizados na região mediana da folha. Entretanto, na parte apical da folha possivelmente pode ocorrer a união dos bordos e o feixe pode apresentar forma de círculo.

O aerênquima observado na região cortical da nervura também foi citado por Gomes *et al.* (1995) para *Psychotria tenuinervis* e *Psychotria stenocalyx* e por Pereira *et al.* (2003) para *Palicouera longepedunculata*. A presença de aerênquima na região da nervura central,

possivelmente, contribui para diminuir o peso específico das folhas, já que a espécie apresenta folhas relativamente grandes.

O padrão de distribuição dos tecidos de sustentação (colênquima e esclerênquima) observado em *Psychotria nuda* foi semelhante ao observado em espécies da mesma família botânica como *Diodia radula* (Willd. et Holffm) Cham. et Schltdl. (VIEIRA, 1986), *Tocoyena bullata* (VIEIRA, 1988), *Bathysa stipulata* (NASCIMENTO *et al.*, 1996) e *Psychotria hoffmannseggiana* (PIETROBOM *et al.*, 2011), ou seja, ausência de colênquima na região dos bordos foliares. Entretanto Pereira *et al.* (2003), e Gomes *et al.* (1995), trabalhando com *Palicouera longepedunculata*, *Psychotria tenuinervis* e *Psychotria stenocalyx*, observaram na região do bordo foliar ocupada por colênquima angular. A presença ou ausência de fibras (esclerênquima) ao redor do feixe vascular é uma característica de importância taxonômica em nível específico nas Rubiaceae (METCALFE; CHALK, 1950; KOCSIS *et al.*, 2004). A presença de fibras foi observada em *Psychotria hoffmannseggiana*, *Psychotria leiocarpa*, *Bathysa stipulata* e em algumas espécies de *Rondeletia*. (VIEIRA *et al.*, 1992; NASCIMENTO *et al.*, 1996; KOCSIS *et al.*, 2004; PIETROBOM *et al.*, 2011)



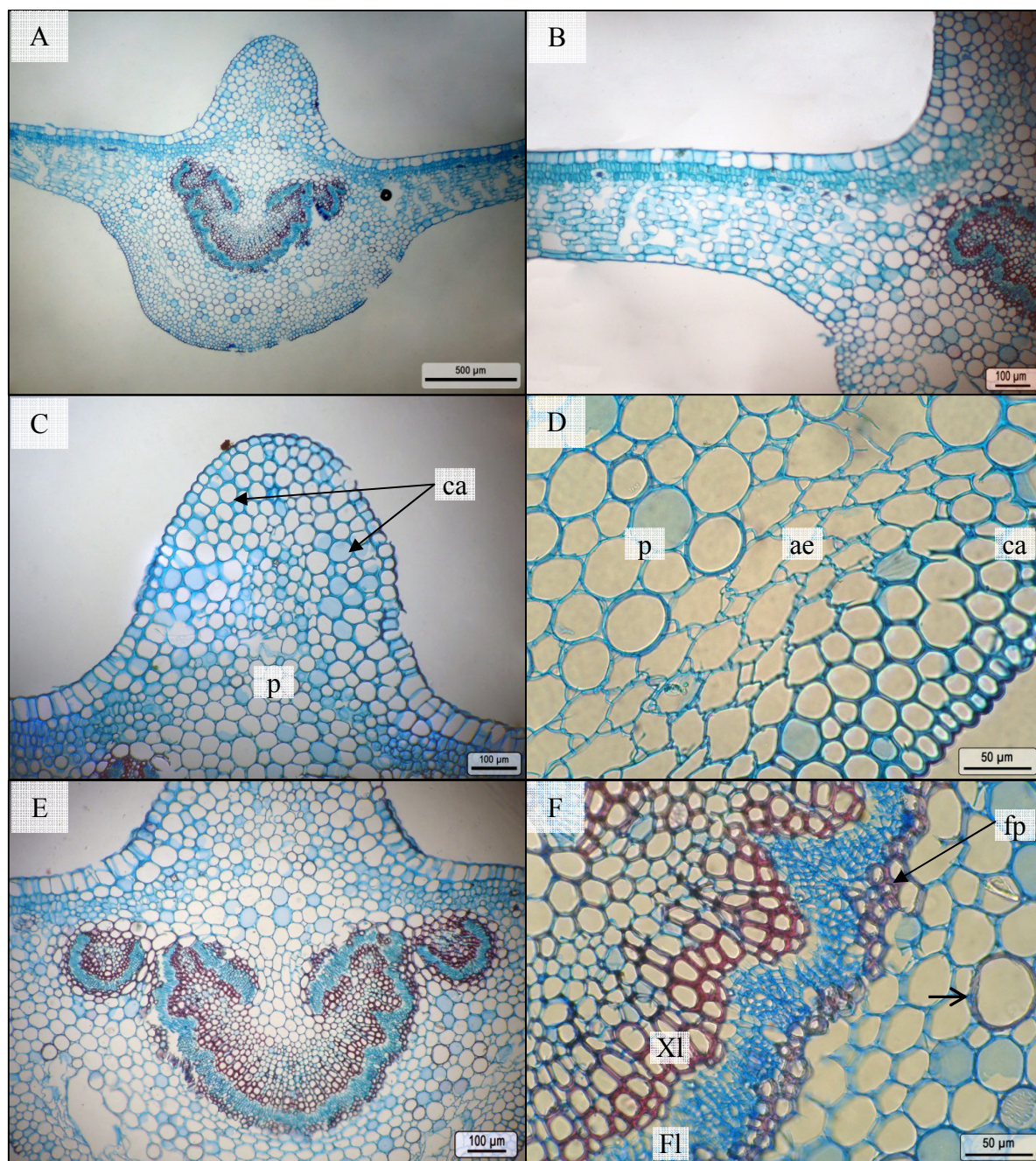


FIGURA 2.7 - Secções transversais da região da nervura central de folhas de *Psychotria nuda* coradas com safrablau. (A) - Vista geral da nervura central; (B) - Detalhe do início do limbo foliar; (C) - Região adaxial da nervura central evidenciando o tecido colenquimático e parenquimático; (D) - Região abaxial da nervura central, detalhando o aerênquima, colênquima e parênquima; (E) - Vista geral do feixe vascular; (F) - Detalhe do tecido vascular, evidenciando fibras perivasculares, floema e xilema. **ca** - colênquima angular; **p** - parênquima; **ae** - aerênquima; **fp** - fibras perivasculares; **XI** - xilema; **Fl** - floema; → - esclereides.

#### 4.3.3. Caracterização anatômica da formação de raízes adventícias

Com a análise dos três tipos de amostras coletadas após 60 dias da instalação do experimento, pode-se verificar aumento na atividade cambial, comparado com as amostras retiradas antes da instalação do experimento da estaquia, ou seja, o câmbio apresenta várias células derivadas. Uma região cambial mais larga, segundo Angyalossi-Alfonso e Marcati (2004), indica alta atividade meristemática do câmbio. Essa atividade é estimulada devido ao acúmulo natural de auxinas, carboidratos entre outras junto ao feixe vascular (HARTMANN *et al.*, 2011).

O início da formação das raízes adventícias, considerando as secções analisadas, inicia-se no câmbio vascular, o qual começa a formar células indiferenciadas, sem forma específica no sentido do interior da secção (Figura 2.8-A). Posteriormente as células do câmbio se organizam para formar o tecido meristemático apical do primórdio radicial, o qual apresenta células com núcleos evidentes, evidenciando alta atividade no tecido (Figura 2.8-B, C, D). Em seguida, ocorre a organização e desenvolvimento do primórdio possuindo forma de cálice, onde, nessa fase, observa-se a superação da região do periciclo fibroso (Figura 2.8-E, F).

A formação de raízes adventícias por diferenciação do câmbio vascular também foi verificada para *Mikaniaglomerata* Sprengel, *Dyospyros kaki* L., *Tibouchina fothergillae* (DC.) Cogn., *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax., *Piptocarpha angustifolia* e *Eremanthus erythropappus* (DC) (FERREIRA *et al.*, 2001; TESUMURA *et al.*, 2001; MAYER *et al.*, 2003; BOEGER *et al.*, 2004; FERRIANI *et al.*, 2008; RESENDE, 2007).

Entretanto, a origem das raízes adventícias varia, sendo acentuada em algumas células e em partes definidas da planta (FACHINELLO *et al.*, 2005; HARTMANN *et al.*, 2011), podendo se originar desde células parenquimáticas de caules, em estrutura primária ou secundária, do câmbio, de células especializadas, como células do parênquima do floema, ou dos calos produzidos na base da estaca. Essa diferença possivelmente está associada à espécie propagada e a técnica utilizada (HARTMANN *et al.*, 2011).

Como exemplo dessa variação pode-se citar os trabalhos com *Ginkgo biloba* L., que apresentou origem das raízes adventícias no parênquima interfascicular em caules jovens e nos raios vasculares próximos ao câmbio em caules maduros (BITENCOURT, 2006), com *Mytenus muelleri* Schwacke, na qual a origem das raízes ocorre externamente ao xilema, provavelmente a partir do câmbio ou do periciclo (LIMA *et al.*, 2011) e com *Sebastiania*



*schottiana* Müll. Arg., a qual apresentou formação de raízes próxima ao cilindro vascular (FRASSETTO, 2007).

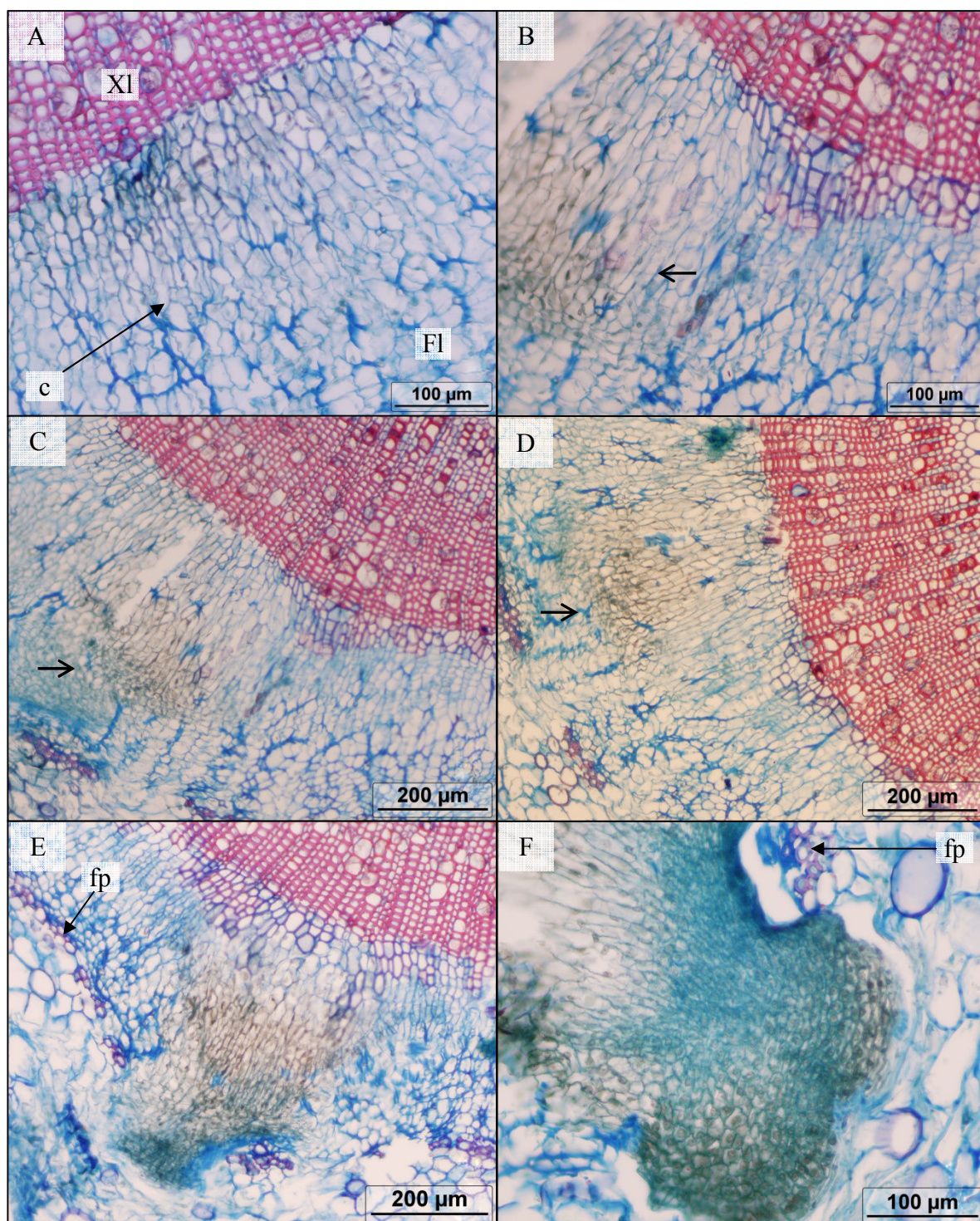


FIGURA 2.8 - Secções transversais da base da estaca caulinares de *Psychotria nuda* após 60 dias da instalação do experimento, coradas com safrablau. (A) - Detalhe das primeiras divisões celulares a partir do câmbio; (B, C, D) - Início da organização do ápice radicial; (E) - Primórdio radicial superando o periciclo fibroso do cilindro vascular; (F) - Detalhe da organização celular do ápice radicial do tecido vascular. **c** - câmbio; **fp** - fibras perivasculares; **XI** - xilema; **FI** - floema; → - ápice da raiz adventícia.

A observação do primórdio radicial superando a região fibrosa do caule demonstra que a presença de fibras delimitando o cilindro vascular não oferece impedimento ao desenvolvimento dos primórdios radiciais. Contudo, autores relatam que a presença de fibras entre o floema e o córtex pode constitui uma barreira anatômica à formação de raízes adventícias originadas nos tecidos internos á essa região (ONO; RODRIGUES, 1996; HARTMANN *et al.* 2011, RICKLI, 2012). O impedimento do desenvolvimento dos primórdios radiciais pela presença de fibras é descrito como sendo, possivelmente, um fator limitante para o enraizamento de estacas caulinares para *Vochysia bifalcata* Warm. (RICKLI, 2012), *Vitis rotundifolia* Michx. cv. Topsail (MAYER *et al.* (2006) e *Maytenus muelleri* (LIMA *et al.*, 2011).

Com o desenvolvimento do primórdio radicial observa-se o aumento do seu comprimento, desenvolvendo-se por intrusão junto aos tecidos do córtex, até a emergência da raiz adventícia pelo rompimento do tecido epidérmico do caule (Figura 2.9-A). Já nessa fase ocorre a presença de tecidos diferenciados, como a epiderme, córtex e tecido vascular (Figura 2.9-B). A conexão vascular entre o sistema vascular da raiz adventícia e o tecido vascular do caule, comprova que as raízes formadas são funcionais e apresentam capacidade de absorção (Figura 2.9-C, D). A diferenciação do tecido vascular foi observa logo após a emergência da raiz adventícia (Figura 2.9-A)

Segundo Fachinello *et al.* (2005) e Raven *et al.* (2007), à medida que o primórdio radicial se desenvolve, ocorre, possivelmente, a secreção de enzimas que auxiliam na sua penetração pelo córtex, e que durante esse crescimento desenvolvem-se a coifa, o meristema apical e se iniciam os meristemas primários, e posteriormente ocorre a conexão vascular, por meio da diferenciação das células do periciclo, na região proximal do primórdio. A conexão vascular também foi observada por Bitencourt (2006) em *Ginkgo biloba* e por Lima *et al.* (2011) em *Maytenus muelleri*.



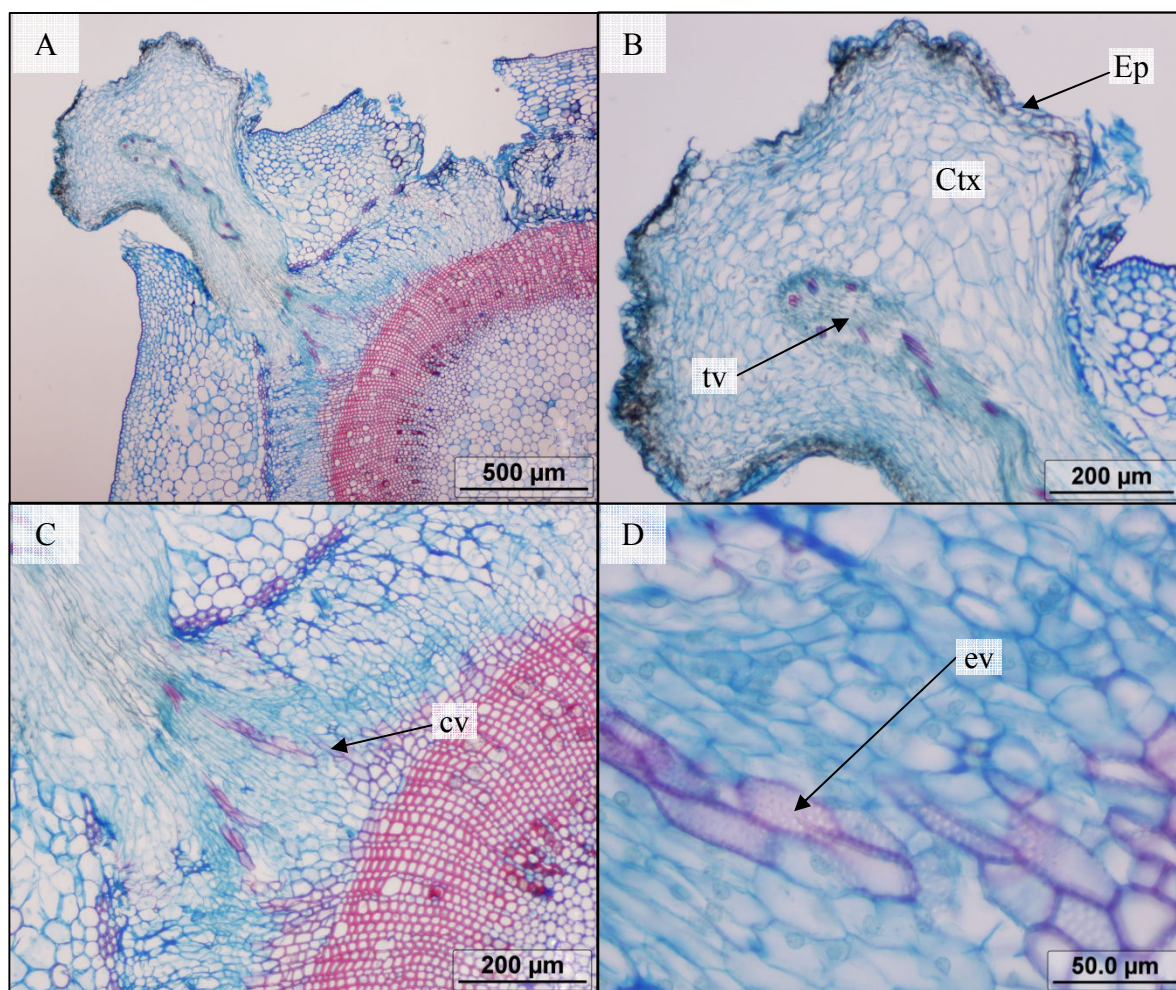


FIGURA 2.9 - Secções transversais da base da estaca caulinares de *Psychotria nuda* após 60 dias da instalação do experimento, coradas com safrablau. (A) - Raiz adventícia formada; (B, C) - Detalhe do ápice e da base da raiz adventícia respectivamente; (D) - Detalhe dos elementos de vaso com pontoações areoladas. **Ep**- epiderme; **Ctx** - córtex; **tv** - tecido vascular; **cv** - conexão vascular; **ev** - elemento de vaso com pontoação areolada.

Algumas regiões das secções transversais da base das estacas enraizadas apresentaram raízes adventícias em corte transversal (Figura 2.10-A, B). A ocorrência desse tipo de visualização de raízes adventícias é devido ao desenvolvimento da mesma em sentido longitudinal pelo interior do córtex do caule. Observa-se, também, o desenvolvimento de raízes secundárias antes mesmo da emergência da raiz adventícia (Figura 2.10-A, B, D).

Em todas as secções observadas no estudo anatômico, mesmo sem a realização de teste histoquímico com lugol, foi observada a presença de grãos de amido localizados principalmente no córtex, na medula do caule e nas raízes adventícias formadas, sendo nessa última em maior quantidade (Figura 2.10-C). Essa observação comprova o transporte de açúcares para base da estaca durante o processo de formação de raízes, uma vez que o teste histoquímico com lugol realizado em secções da base das estacas antes da instalação do

experimento de estaquia, não evidenciou a presença de amido em nenhum dos tecidos do caule.

Bitencourt (2006), trabalhando com *Ginkgo biloba*, observou ausência de amido em secções transversais de amostras retiradas aos 60 dias de permanência das estacas no leito de enraizamento, as quais nessa época, só apresentavam a formação de calos, entretanto aos 130 dias, com a formação de raízes nas estacas, foi observado grãos de amido nas secções.

Os carboidratos são transportados do ápice (folhas e gemas) para a base da estaca, onde se acumulam devido ao corte realizado na confecção da estaca juntamente com outras substâncias como a auxina. Sendo assim, o acúmulo dessas substâncias adicionado à produção de etileno na região e o aumento da taxa de respiração, promove a divisão celular no tecido lesionado, iniciando assim o processo de formação das raízes adventícias (HARTMANN *et al.*, 2011).



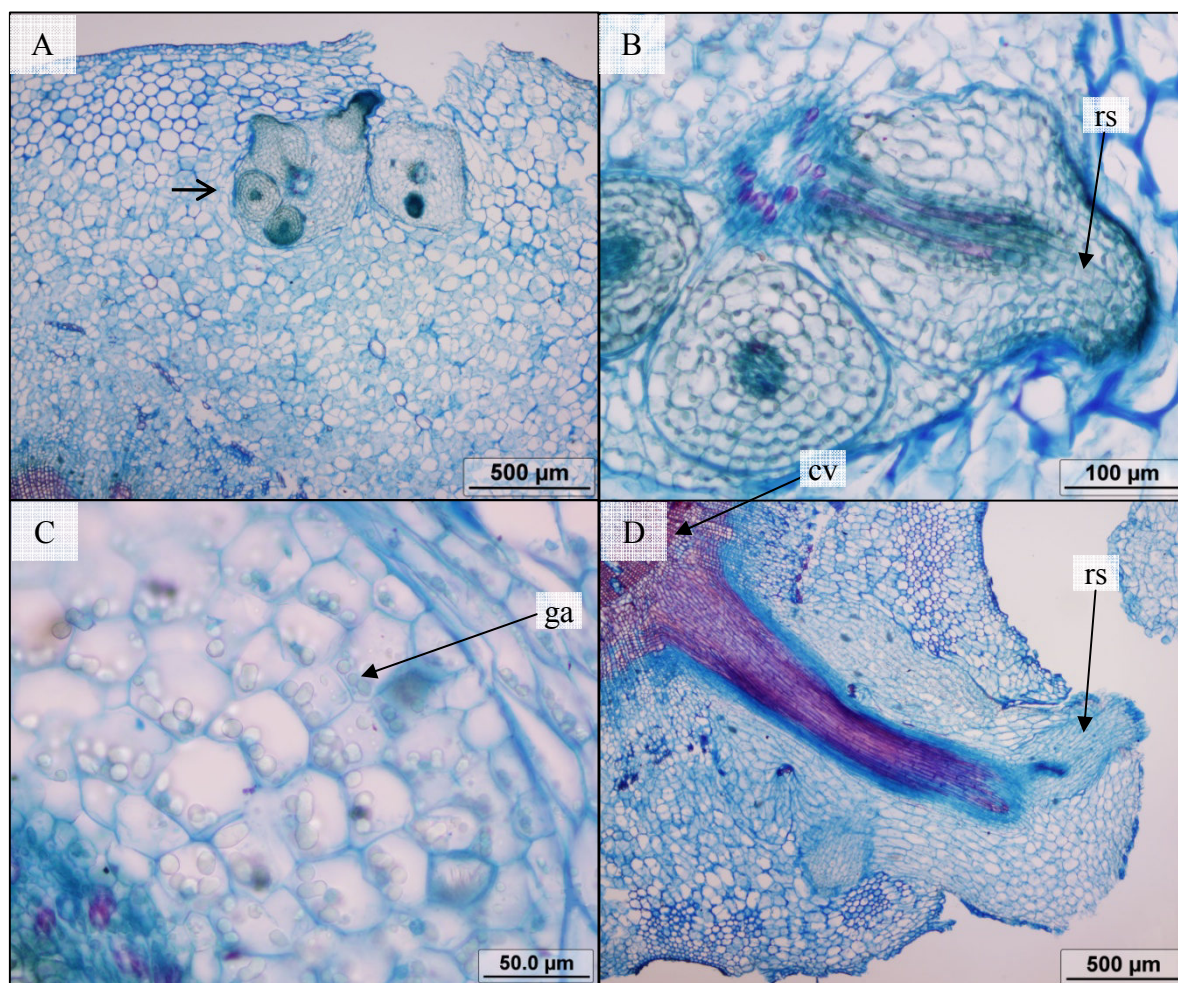


FIGURA 2.10 - Secções transversais da base da estaca caulinares de *Psychotria nuda* após 60 dias da instalação do experimento, coradas com safrablau. **(A)** - Raiz adventícia em corte transversal evidenciando a formação de raízes secundárias; **(B)** - Detalhe da raiz adventícia em corte transversal demonstrando a conexão vascular com a raiz secundária; **(C)** - Grãos de amido no interior das células da raiz adventícia; **(D)** - Secção evidenciando a conexão vascular e formação de raiz secundária. **cv** - conexão vascular; **rs** - raiz secundária; **ga** - grãos de amido; **→** - raiz adventícia em corte transversal.

Analisando as secções transversais de estacas que apresentavam somente formação de calo visível, não foi observada, nesse estudo, a formação de primórdios radiciais a partir do tecido dos calos. O tecido caloso é representado por diversas camadas de células com aspecto parenquimático com formas irregulares. Seu desenvolvimento ocorre a partir de divisões do câmbio (Figura 2.11-A, B). Com o crescimento da massa de células produzidas, os tecidos adjacentes foram forçados para o exterior do corte, e devido à pressão sofrida, ocorreu o rompimento do córtex e do tecido epidérmico, fazendo com que o tecido dos calos fosse visível no exterior da estaca (Figura 2.11-C). Os calos também foram formados a partir de células da medula na região do corte realizado na base da estaca, as quais se desdiferenciam e

iniciaram divisões celulares formando um novo ponto de crescimento meristemático (Figura 2.11-D), e menos frequente formados de células do córtex.

Em resposta à lesão sofrida no momento da confecção das estacas, as células da superfície lesionada, inicia um processo de cicatrização e regeneração, por meio da atividade de células presentes na região, que conseqüentemente dão origem a uma massa de células parenquimatosas pouco diferenciadas, desorganizadas e com diferentes graus de lignificação, chamada calos, os quais são resultado da atividade extra do câmbio, havendo, no entanto, a participação das células dos tecidos vivos presentes, tais como colênquima, parênquima cortical, felogênio, parênquimas axial e radial do xilema e floema secundários (HARTMANN *et al.*, 2011).

Não foram encontrados primórdios radiciais formados da diferenciação de células dos calos nas secções observadas. Sendo assim, aparentemente, o desenvolvimento de raízes e dos calos são processos independentes, pois analisando as secções de amostras que continham raízes e calos na base da estaca, foi observada a formação raízes adventícias diretamente do câmbio e se desenvolviam através do tecido dos calos. A característica de formação direta das raízes adventícias do câmbio é relacionada a espécies de fácil enraizamento (PEIXE *et al.*, 2007).

Em *Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo (Rubiaceae), as raízes adventícias são raramente formadas diretamente dos calos (ONO *et al.*, 1996). Noor Camellia *et al.* (2009) concluíram que a formação de raízes adventícias em *Jatropha curcas* L. e a formação de calos são processos independentes, e a origem das raízes se dá diretamente da endoderme (próximo ao feixe vascular e fora do câmbio). Já para *Macadamia integrifolia* Maiden & Betche cv. Keauhou, Gondim *et al.* (1999) relatam que primeiramente ocorre o desenvolvimento dos calos e , em seguida, a formação do primórdio radicial propriamente dito, que se dá na base dos calos, adjacente à zona cambial. Os mesmos autores relatam que o tecido dos calos origina-se por divisão das células iniciais do câmbio e de células do parênquima.

Segundo Hartmann *et al.* (2011) as raízes aparecem com frequência por meio dos calos, levando à suposição de que seu desenvolvimento é essencial para o enraizamento. No entanto, na maioria das plantas, a formação de calos e de raízes adventícias são processos independentes, sendo que sua ocorrência simultânea deve-se à similaridade das condições favoráveis para ambos, havendo relatos que o excesso de calos na base da estaca impede a formação de raízes.



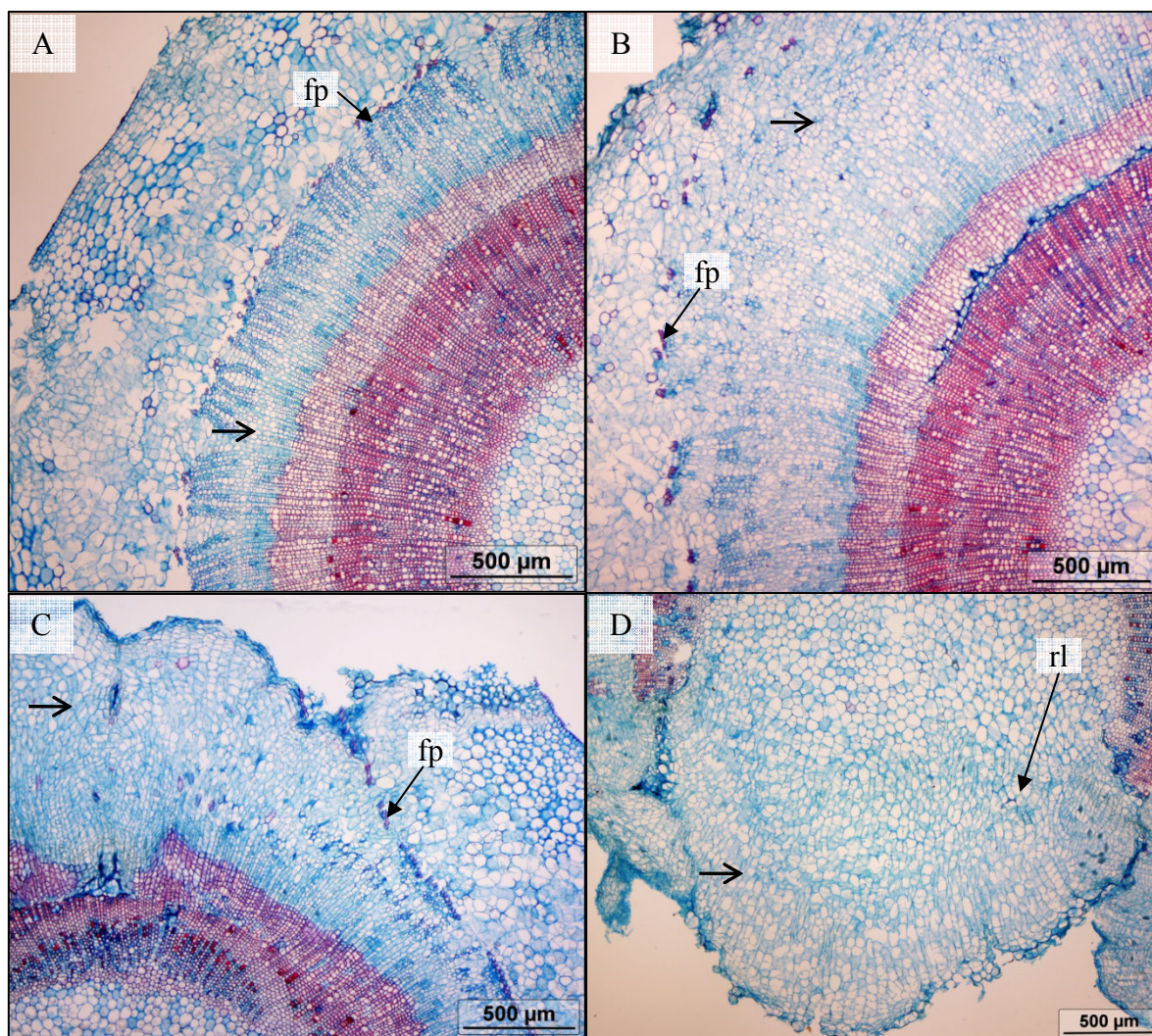


FIGURA 2.11 - Secções transversais da base da estaca caulinares de *Psychotria nuda* após 60 dias da instalação do experimento, coradas com safrablau. (A) - Início da atividade cambial, com formação de células indiferenciadas; (B) - Crescimento do tecido dos calos pressionando os tecidos adjacentes; (C) - Rompimento do tecido epidérmico devido ao crescimento dos calos; (D) - Calos formados na região lesionada a partir da dediferenciação de células da medula. **fp** - fibras periclinais; **rl** - região da lesão; **→** - calos.

É possível classificar a formação das raízes adventícias em estacas caulinares de *Psychotria nuda* em quatro etapas de mudanças anatômicas, sendo elas: 1) aumento da atividade cambial, seguida da multiplicação de células dediferenciadas próximas ao xilema secundário; 2) organização do tecido meristemático na região distal do primórdio; 3) desenvolvimento em primórdios radiciais organizados; 4) desenvolvimento e emergência dos primórdios através do tecido cortical da estaca, com posterior formação de conexões vasculares entre os primórdios e os tecidos condutores. As etapas descritas são similares às relatadas por FACHINELLO *et al.* (2005) e HARTMANN *et al.* (2011).

#### 4.4. CONCLUSÕES

Com a análise anatômica das folhas e caules de estacas caulinares de *Psychotria nuda*, realizadas neste estudo, pôde-se concluir que:

- A organização estrutural reflete as características gerais da família Rubiaceae, ou seja, no caso do caule, epiderme unisseriada, fibras isoladas no periciclo e xilema contínuo apresentando elementos condutores na sua maioria solitários, e nas folhas, lâmina foliar hipostomáticas com estômatos paracíticos, mesófilo dorsiventral e feixes vasculares do tipo colateral.
- Foram identificadas características foliares típicas de plantas de ambiente sombreado, tais como: células epidérmicas recobertas por delgada camada cuticular, parênquima paliádico voltado apenas para a face adaxial da lâmina e amplos espaços intercelulares no mesófilo.
- Não houve diferenças marcantes em relação à estrutura interna do caule em estacas provenientes de matrizes localizadas nos dois tipos de ambientes.
- As folhas apresentaram diferenças anatômicas dependendo do ambiente de desenvolvimento das matrizes, onde folhas provenientes de árvores localizadas na encosta apresentam parênquima paliádico e lacunoso com menor quantidade de camadas em relação às folhas provenientes de árvores localizadas na planície.
- Cristais prismáticos de oxalato de cálcio apresentam lamela lipídica recobrendo a cavidade do cristal.
- Visualmente a maior quantidade de cristais prismáticos ocorre nos materiais provenientes de árvores localizadas na encosta em relação às localizadas na planície.

No estudo anatômico da formação de raízes adventícias de *Psychotria nuda*, pode-se concluir que:

- Não existem barreiras mecânicas para o desenvolvimento das raízes uma vez que as fibras periclinais não formam uma camada contínua.
- Grãos de amido foram verificados nas secções observadas, os quais não estavam presentes nos cortes realizados antes da instalação do experimento de estaquia.
- O período no leito de enraizamento promoveu alteração na atividade do câmbio vascular.
- As raízes adventícias originaram-se diretamente do câmbio vascular, não tendo sido observado formação de raízes do tecido dos calos.



- A formação de calos ocorreu nas regiões do câmbio, da medula e no córtex.
- Anatomicamente, a *Psychotria nuda* pode ser considerada uma espécie de fácil enraizamento, devido a alta atividade cambial, a formação das raízes adventícias diretamente do câmbio e a reduzida quantidade de tecidos esclerificados na região periferia do cilindro central.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTAMURA, M. M. Root histogenesis in herbaceous and woody explants cultured *in vitro*. A critical review. **Agronomie**, Paris, v. 16, p. 589-602, 1996.

ANGYALOSSY-ALFONSO, V.; MARCATI, C. R. Câmbio vascular. In: APPEZZATODA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal**. Viçosa: UFV, 2004. p. 205-212.

ASSIS, M. C.; GIULIETTI, A. M. Diferenciação morfológica e anatômica em populações de “ipecacuanha” - *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 205-216, 1999.

BITENCOURT, J. **Propagação vegetativa de *Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae)**. 95 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

BOERGER, M. R. T.; ALQUINI, Y.; NEGRELLE, R. R. B. Características anatômicas da região nodal de estacas em diferentes fases de desenvolvimento de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel – Asteraceae) e formação de raízes adventícias. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 5, n. 2, p. 1-6, 2004.

BOSABALIDIS, A. M.; KOFIDIS, G. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive Cultivars. **Plant Science**, Limerick, v. 163, p. 375-379, 2002.

COUTINHO, L. M. Contribuição ao conhecimento da mata pluvial tropical. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo. Botânica**, São Paulo, v. 18, p. 1-219, 1962.

CUNHA, M.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Psychotria vellosiana* Benth. (Rubiaceae). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 45/49, n. 71/75, p. 39-50, 1993/1997.

DELPRETE, P. G.; SMITH, L. B.; KLEIN, R. M. R. **Flora Ilustrada Catarinense: Rubiaceae**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2005. v. 2.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. Propagação vegetativa por estaquia. In: FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 69-109.

FERMINO JUNIOR, P. C. P.; PAULILO, M. T. S.; REIS, A.; SANTOS, M. Espécies pioneiras e climáticas da Floresta Ombrófila Densa: anatomia foliar comparada. **Insula**, Florianópolis, v. 33, p. 21-37, 2004.

FERREIRA, B. G. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; BOERGER, M. R. T.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. pela aplicação de ácido indol butírico e ácido bórico. **Leandra**, Rio de Janeiro, v. 16, p. 11-16, 2001.

FERRIANI, A. P.; MAYER, J. L. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; KOEHLER, H. S.; DESCHAMPS, C.; CARPANEZZI, A. A.; OLIVEIRA, M. C. Estaquia e anatomia de vassourão-branco. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, n. 2, p. 159-166, 2008.

FRAGOSO, V. **Alcalóides de Psychotria**: fotorregulação e propriedades antioxidantes e antimutagênicas. 102 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

FRANCESCHI, V. R.; NAKATA, P. A. Calcium oxalate in plants: formation and fuction. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 56, p. 41-71, 2005.

FRASSETTO, E. G. **Enraizamento adventício de estacas de *Sebastiania schottiana* Müll. Arg.** 115 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal – Silvicultura) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

GOMES, D. M. S.; MANTOVANI, A.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Psychotria tenuinervis* Mill. Arg. e *P. stenocalyx* Miill. Arg. (Rubiaceae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 38, n. 1, p. 15-33, 1995.

GONDIM, T. M. S.; MARIA, J.; SEDIYAMA, T. Anatomia de raízes adventícias em estacas de Macadâmia. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 20, n. 2, p. 45-51, 1999.

GORENSTEIN, M. R. Estrutura populacional de *Psychotria nuda* (Cham & Schltdl.) Wawra, *Hyeronima alchorneoides* Allemão e *Marlierea obscura* Berg. em floresta Ombrófila Densa Submontana na Ilha do Cardoso, litoral sul de São Paulo. In: PRÁTICA da Pesquisa em Ecologia da Mata Atlântica. Cananéia-SP, 2007. p. 1-6. Disponível em: <[http://ecologia.ib.usp.br/curso/2007/pdf/individuais/i\\_mauricio\\_romero.pdf](http://ecologia.ib.usp.br/curso/2007/pdf/individuais/i_mauricio_romero.pdf)>. Acesso em: 25/03/2012.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JÚNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant Propagation**: principles and practices. 8. ed. New York: Englewood Clippis, 2011. 915 p.

HOWARD, R. A. The petiole. In: METCALFE, C. R.; CHALK, L. (Ed.) **Anatomy of the Dicotyledons: Systematic Anatomy of the leaf and stem**. Oxford: Clarendon Press, 1979. v. 1, p. 88-96.

ISANOGLE, I. T. Effect of controlled shading upon the development of leaf structure in two deciduous tree species. **Ecology**, Durham, v. 25, p. 409-413, 1944.

IZA, O. B. **Parâmetros de autoecologia de uma comunidade arbórea de Floresta Ombrófila Densa, no Parque Botânico do Morro Baú, Ilhota, SC. Santa Catarina**. 92 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: MacGraw-Hill Book, 1940. 523 p.

KOCSIS, M.; DARÓK, J.; BORHIDI, A. Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* species. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 248, p. 205-218, 2004.

KOSTMAN, T. A.; FRANCESCHI, V. R. Cell and calcium oxalate crystal growth is coordinated to achieve high capacity calcium regulation in plants. **Protoplasma**, New York, v. 214, p. 166-179, 2000.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 198 p.

LEAF ARCHITECTURE WORKING GROUP. **Manual of leaf architecture**: morphological description and categorization of dicotyledonous and net-veined monocotyledonous Angiosperms. Washington: Smithsonian Institution, 1999.

LERSTEN, N. R. Occurrence of endodermis with a Casparian strip in stem and leaf. **Botanical Review**, Bronx, v. 63, n. 3, p. 265-271, 1997.

LIMA, D. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. S. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 13, n. 4, p. 422-438, 2011.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

MARTINEZ-CABRERA, D.; TERRAZAS, T.; OCHOTERENA, H. Foliar and petiole anatomy of tribe Hamelieae and other Rubiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 96, p. 133-145, 2009.

MAYER, J. L. S.; BIASI, L. A.; BONA, C. Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis* L. (Vitaceae) relacionada com os aspectos anatômicos. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 20, n. 3, p. 563-568, 2006.

MAYER, J. L. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; RIBAS, L. L. F.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R. Enraizamento e anatomia de estacas de *Tibouchina fothergillae* (DC.) Cogn. (Melastomataceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 9., 2003, Atibaia. **Resumos...** Atibaia: Brazilian journal of Plant Physiology, 2003. 148-148 p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of dicotyledons**: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic use. 2. ed. Oxford: Clarendon Press, 1979. v. 1.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, 1950. v. 2, 1500 p.

MOLANO-FLORES, B. Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). **Annals of Botany**, London, v. 88, n. 3, p. 387-391, 2001.

NAKATA, P. A. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. **Plant Science**, Kidlington, v. 164, p. 901-909, 2003.

NASCIMENTO, M. V. O.; GOMES, D. M. S.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Bathysa stipulata* (Vell.) Presl. (Rubiaceae). **Revista Unimar**, Maringá, v. 18, n. 2, p. 387-401, 1996.

NEPOKROEFF, M.; BREMER, B.; SYTSMA, K. J. Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and rbcL sequence data. **Systematic Botany**, Kent, v. 24, n. 1, p. 5-27, 1999.

NOOR CAMELLIA, N. A.; THOHIRAH, L. A.; ABDULLAH, N. A. P.; MOHD KHIDIR, O. Improvement on rooting quality of *Jatropha curcas* using indole butyric acid (IAB). **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, Maan, v. 5, n. 4, p. 338-343, 2009.

OLIVEIRA, M. G.; GOMES, M. S.; MOURA, M. V. L. P. Anatomia e micromorfologia foliar de *Melanopsidium nigrum* Colla. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 2, p. 87-94, ago./dez. 2003.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 83 p.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; DE PINHO, S. Z. Action of auxins and/or boron, in the process of root formation in cuttings of coffee (*Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo). **Boron in Agriculture**, Wigginton. v. 16, n. 2, p. 14-14, 1996.

PEIXE, A.; SERRAS, M.; CAMPOS, C.; ZAVATTIERI, M. A.; DIAS, M. A. S. Estudo histológico sobre a formação de raízes adventícias em estacas caulinares de oliveira (*Olea europaea* L.). **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 30, n. 1, p. 476-482, 2007.

PEREIRA, Z. V.; MEIRA, R. M. S. A.; AZEVEDO, A. A. Morfoanatomia foliar de *Palicourea longepedunculata* Gardiner (Rubiaceae). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 6, p. 759-767, 2003.

PIETROBOM, R. C. V.; PAOLI, A. A. S.; BIERAS, A. C. Morfoanatomia foliar de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. e *Psychotria trichophora* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Naturalia**, Rio Claro, v. 34, p. 21-42, 2011.

PROGRAMA PROTEÇÃO DA MATA ATLÂNTICA (PRÓ-ATLÂNTICA). **Atlas da Floresta Atlântica no Paraná**: área de abrangência do programa proteção da Floresta Atlântica. Curitiba: SEMA/Programa Proteção da Floresta Atlântica, 2005. 104 p.

QUINTEIRO, M. M. C.; TEIXEIRA, D. C.; MORAES, M. G.; SILVA, J. G. Anatomia foliar de *Psychotria viridis* Ruiz & Pav. (Rubiaceae). **Revista da Universidade Rural Série Ciência da Vida**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 2, p. 30-41, 2006.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. Raiz: estrutura e desenvolvimento. In: \_\_\_\_\_. **Biologia vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. p. 546-562.

REZENDE, A. A. **Enraizamento de estacas de candeia *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish**. 75 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

RICKLI, H. **Propagação de Guaricica (*Volchysia bifalcata* Warm.) por semente e estaquia caular.** 102 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

ROBBRECHT, E.; DE BLOCK, P.; DEGREEF, J.; STOFFELEN, P. **Monographic and systematic studies in Rubiaceae.** Nacional Botanic Garden of Belgium. Disponível em: <<http://www.br.fgov.be/RESEARCH/PROJECTS/rubiaceae.php>>. Acesso: 14/03/2012.

RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares.** Jaboticabal:FUNEP, 1996. 83 p.

SILVA, L. M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V. J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botânica Brasilica**, Porto Alegre, v. 19, n. 1, p. 183-194, 2005.

SMITH, W. K.; VOGELMANN, T. C.; DELUCIA, E. H.; BELL, D. T.; SHEPHERD, K. A. Leaf form and photosynthesis. **BioScience**, Washington, v. 47, p. 785-793, 1997.

SOUZA, R. C. O. S.; MARQUETE, O. *Miconia tristis* Spring e *Miconia dorianae* Cogn. (Melastomataceae): Anatomia do eixo vegetativo e folha. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 51, p. 133-142, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 782 p.

TAYLOR, C. M. Rubiaceae. In: MELHEM, T. S. A.; WANDERLEY, M. G. L.; MARTINS, S. E.; JUNG-MENDAÇOLLI, S. L.; SHEPHERD, G. J.; KIRIZAWA, M. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo.** São Paulo: Fapesp: Instituto de Botânica, 2007. v. 5, 476 p.

TAYLOR, C. M.; DOMÍNGUEZ-LICONA, E.; OCHOTERENA, H. A New Species of *Psychotria* subg. *Psychotria* (Rubiaceae, Psychotrieae) from West-Central Mexico. **Novon: A Journal for Botanical Nomenclature**, Saint Louis, v. 17, p. 105-109, Apr. 2007.

TETSUMURA, T.; RYUTARO, T.; SUGIURA, A. Some factors affecting the rooting of softwood cuttings of Japanese Persimmon. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Kyoto, v. 70, n. 3, p. 275-280, 2001.

VIEIRA, R. C. *Diodia radula* (Willd. et Holffm) Cham. et Schltdl. (Rubiaceae): anatomia foliar. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 3, p. 667-674, 1986.

VIEIRA, R. C. *Tocoyena bullata* (Vell.) Mart. (Rubiaceae): anatomia foliar. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 40, p. 33-39, 1988.

VIEIRA, R. C.; GOMES, D. M. S. Superfície da lâmina foliar de *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra, *P. leiocarpa* Cham. & Schltdl., *P. stenocalyx* Müll. Arg. e *P. tenuinervis* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 263-270, 1995.

VIEIRA, R. C.; GOMES, D. M. S.; FERRAZ, C. L. A. Anatomia foliar de *Psychotria nuda* Wawra e *Psychotria leiocarpa* Mart. (Rubiaceae). **Hoehnea**, São Paulo, v. 19, n. 1/2, p. 185-195, 1992.



## 5. CAPÍTULO III: INFLUÊNCIA DO FATOR GENÉTICO NO ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra

### RESUMO

*Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra é nativa da Floresta Ombrófila Densa (FOD) e pertence a família botânica Rubiaceae. Sua ocorrência é restrita às florestas de baixa altitude dos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Possui potencial ornamental, devido à presença de flores amarelas, cálice vermelho e frutos cor anis e farmacêutico, onde vários alcalóides já foram isolados, demonstrando diversidade estrutural de compostos ativos. Tendo em vista a necessidade de verificar a influência do potencial genético no processo de formação de raízes adventícias, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o enraizamento de miniestacas oriundas de minicepas produzidas via estaquia, de diferentes matrizes de *Psychotria nuda*. As miniestacas foram confeccionadas com 2-4cm de comprimento e um par de folhas na porção apical, com sua área reduzida pela metade. Os tratamentos analisados consistiram em diferentes materiais genéticos da espécie em estudo, os quais foram divididos em dois grupos, segundo o potencial de enraizamento determinado em experimentos preliminares de estaquia. As matrizes 49, 55, 57 e 60 compunham o grupo com baixo potencial de enraizamento, e as matrizes 41, 51, 52, 56, e 59 pertenciam ao grupo com melhor resposta em relação à formação de raízes adventícias. Após 40 dias em casa de vegetação, foram avaliadas a porcentagem de miniestacas enraizadas, número e comprimento das raízes formadas, percentual de miniestacas com calos, sobrevivência e mortalidade, em um delineamento inteiramente casualizado com nove tratamentos com três repetições de 15 miniestacas por unidade experimental. A produção de miniestacas/minicepa variou de 0,7 a 1,2 em recipientes contendo 180 cm<sup>3</sup>, sendo que não foram encontradas grandes variações entre os dois grupos de matrizes. A sobrevivência das minicepas, do início da sua produção até a coleta das brotações, apresentou bons resultados, sendo que o menor valor obtido foi de 47,5%, resultado que, considerando o método de produção das minicepas, pode ser considerado satisfatório. O processo de formação e desenvolvimento de raízes adventícias em miniestacas de *Psychotria nuda* é influenciado pelas características genéticas de cada planta matriz, sendo os materiais genéticos 41, 51 e 56 superiores na formação do sistema radicial em comparação aos demais. Já a formação de calos, sobrevivência e mortalidade de miniestacas de *Psychotria nuda* não são influenciadas pelas características individuais das plantas matrizes.

**Palavras-chave:** Rubiaceae, características genéticas, grandíúva-d'anta, miniestaquia

## INFLUENCE OF GENETIC FACTOR FOR MINICUTTINGS' ROOTING OF

*Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra

### ABSTRACT

*Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae) is a native species from the Dense Ombrophylous Forest (dense tropical rain forest), belonging to the Rubiaceae botanical family. It occurrence is endemic to the low altitudes forests of the states of Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul. Due to the presence of yellow flowers, red calyx and anise fruits it has an considerable ornamental potential and also pharmacist potential, due to several alkaloids which have been isolated, demonstrating structural diversity of active compounds. Given the need of investigating the influence of the genetic potential in the process of adventitious root formation, this study aimed to evaluate the rooting of minicuttings derived from ministumps produced through cutting of different stock plants of *Psychotria nuda*. The cuttings were prepared 2-4 cm long with only one pair of halved leaves in the apical portion. The analyzed treatments consisted of different genetic materials of the studied specie, which were divided into two groups according to the rooting potential obtained in preliminary cutting experiments. Stock plants 49, 55, 57 and 60 comprised the group with low rooting potential, and stock plants 41, 51, 52, 56, and 59 belonged to the group with better response in relation to adventitious root formation. After 40 days in the greenhouse, rooted mini-cuttings, number and length of roots per cutting, mini-cuttings with callus, survival and dead percentages were evaluated in a completely randomized design with nine treatments with three replications of 15 cuttings per plot. The production of mini-cuttings/mini-stumps ranged from 0.7 to 1.2 in vessels containing 180 cm<sup>3</sup>. There were no significant variations between the two stock plants groups. The survival of mini-stumps since the beginning of its production, until the time of collection of the shoots, showed good results; being the lowest value 47.5%, taking into account the mini-stumps production method this result can be considered satisfactory. The formation process and the development of adventitious roots in mini-cuttings of *Psychotria nuda* is influenced by the genetic characteristics of each stock plant. The stock plant 41, 51 and 56 showed superiority in the formation of the root system compared to others. However, callus formation, survival and mini-cuttings mortality of *Psychotria nuda* are not influenced by the individual characteristics of the stock plants.

**Key-words:** Rubiaceae, genotype, grandiúva-d'anta, mini-cutting.

## 5.1. INTRODUÇÃO

*Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae) é uma espécie nativa da Floresta Ombrófila Densa (FOD) atlântica, a qual ocorre nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, possuindo ampla distribuição geográfica no Brasil, de importância ornamental (DELPRETE *et al.*, 2005), ecológica (ALMEIDA; ALVES, 2000), medicinal e farmacológica (FRAGOSO, 2007). É uma espécie esciófita, higrófito, situadas nos estratos inferiores de florestas primárias bem desenvolvidas (FERMINO JUNIOR *et al.*, 2004; GORENSTEIN, 2007, PRATA *et al.*, 2011)

A propagação vegetativa consiste em multiplicar uma planta assexuadamente, ou seja, sem recombinação gênica, pois utiliza segmentos vegetativos como folhas, caules e raízes (FERRARI *et al.*, 2004; HARTMANN *et al.*, 2011). Dessa forma, a constituição genética é inalterada e, conseqüentemente, tem-se a formação de clones (XAVIER *et al.*, 2009), sendo especialmente favorável quando se necessita manter a constituição gênica de indivíduos superiores identificados nas populações (HARTMANN *et al.*, 2011).

Dentre as técnicas de propagação vegetativa utilizadas em espécie florestais, tem-se a enxertia, a mergulhia, a alporquia, micropropagação e a estaquia. Esta última é a de mais fácil execução e de grande utilidade e importância no meio florestal, destacando-se como método economicamente viável para produção de novos indivíduos de algumas espécies (GRAÇA; TAVARES, 2000; HARTMANN *et al.*, 2011).

A miniestaquia pode ser considerada uma especialização da estaquia convencional, a qual resumidamente consiste na utilização de brotações de plantas propagadas pelo processo de estaquia, ou mudas produzidas por sementes, denominadas minicepas, para a formação de uma nova planta (WENDLING, 2003; ALFENAS *et al.*, 2004). Constitui uma alternativa que pode suprir a necessidade do resgate da juvenilidade do material a ser propagado, evidenciada como fator limitante da capacidade de formação de raízes adventícias ocorrida devido ao processo de maturação (HARTMANN *et al.*, 2011).

Os estudos sobre a miniestaquia como técnica de propagação vegetativa aplicada a espécies florestais nativas são ainda escassos, mas existem trabalhos que apontam a viabilidade desta técnica para a produção de mudas, a exemplo dos trabalhos desenvolvidos com *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire (WENDLING *et al.*, 2007), *Erythrina falcata* Benth. (CUNHA *et al.*, 2008), *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. (FERREIRA *et al.*, 2010) e *Calophyllum brasiliense* Cambess. (SILVA *et al.*, 2010).

Independente do método de propagação vegetativa utilizado, o grau de sucesso obtido é determinado pela relação entre diversos fatores, os quais podem ser resumidos em: 1) inerentes à planta matriz, como o genótipo (SOUZA; LIMA, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2008), condição fisiológica e idade da planta matriz (HARTMANN *et al.*, 2011); 2) inerentes ao ambiente, tem-se as condições climáticas e o ambiente de desenvolvimento das plantas matrizes (ALFENAS *et al.* 2004; ALMEIDA *et al.*, 2008; HARTMANN *et al.*, 2011); e 3) inerentes à técnica, como a composição do substrato utilizado (BONA *et al.*, 2005) e o uso de reguladores de vegetais (ALCANTARA *et al.*, 2010).

É sabido que a capacidade de formação de raízes adventícias é variável entre espécies e entre indivíduos da mesma espécie. Essa variação está relacionada a características específicas da planta matriz, às condições em que ocorre o enraizamento e a fatores internos da própria estaca, dentre eles, o potencial genético da espécie ou da matriz para o enraizamento (GOMES *et al.*, 2000; FERRARI *et al.*, 2004; HARTMANN *et al.*, 2011). Rojas *et al.*(1987) trabalharam com enraizamento de estacas oriundas de rebrota de cepas de *Eucalyptus camaldulensis* plantado em dois sítios no Chile, e encontraram que o efeito da variação individual da planta matriz na capacidade de enraizamento foi altamente significativo.

Dentre outros estudos que relatam a variação genética no enraizamento de estacas em espécies arbóreas, pode-se citar Farmer *et al.* (1992) para *Larix laricina* (Du Roi) K. Koch; Radosta *et al.* (1994) para o híbrido de *Larix decidua* Mill x *Larix kaempferi* (Lamb.) Carr.; Correa (1995) para *Ilex paraguayensis* e Souza e Lima (2005) para *Spondias mombin* L.

O estudo do potencial genético sobre a formação de raízes adventícias até o momento é verificado para espécies florestais ou frutíferas com importância econômica; entretanto para espécies nativas de importância ecológica, esse fator não deve ser desconsiderado. Diante do exposto, o objetivo do presente capítulo foi avaliar o potencial genético de diferentes matrizes de *Psychotria nuda* no enraizamento de miniestacas, oriundas de minicepas produzidas via estaquia de matrizes previamente selecionadas.

## 5.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.2.1. Produção das minicepas

A coleta das miniestacas foi realizada em minicepas oriundas de propagação vegetativa via estaquia de *Psychotria nuda*, sendo a produção das minicepas realizada por matriz. Por meio de experimentos de estaquia realizados anteriormente foram selecionadas cinco matrizes que apresentaram resultados superiores de enraizamento de estacas oriundas de brotação do ano e quatro matrizes com porcentagens de enraizamento mais baixas. Para cada matriz foi designado um número de referência para identificar os materiais genéticos no campo. As matrizes incluídas no grupo com menor capacidade de enraizamento foram classificadas com os seguintes números de referência: 49, 55, 57, 60. As matrizes com maior potencial de enraizamento apresentaram a seguinte numeração: 41, 51, 52, 56, 58.

As matrizes selecionadas encontram-se na Reserva Natural do Morro da Mina, localizada no litoral paranaense próximo às coordenadas UTM 7189000 N e 72300 E (DATUM SAD 69), município de Antonina-PR. A Reserva pertence à Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental-SPVS, abrangendo uma área de 3.300 ha. A área apresenta trechos da encosta da Serra do Mar e da planície litorânea, chegando até a baía de Antonina (SPVS, 2010) (Anexo 1). O clima da região litorânea paranaense, pelo Sistema Internacional de Köppen, é do tipo Cfa (Clima Subtropical Úmido - Mesotérmico), com média do mês mais quente superior 22°C e no mês mais frio inferior a 18°C, sem estação seca definida, verão quente e geadas pouco frequentes (IPARDES, 2001; VANHONI; MENDONÇA, 2008).

De cada matriz selecionada foram coletados ramos formados na última fase de crescimento (brotações do ano), os quais foram armazenados em sacos plásticos e encaminhados para o Laboratório de Propagação de Espécies Florestais da Embrapa Florestas, localizado em Colombo - PR. A partir dos ramos coletados foram confeccionadas estacas de 10 a 13 cm de comprimento, com corte em bisel na base e corte reto na porção superior, sendo mantidas duas folhas na porção apical, com sua área reduzida à metade, objetivando a redução da perda de água pela transpiração foliar.

Após a confecção, as estacas foram plantadas em tubetes de polipropileno com volume de 180cm<sup>3</sup>, contendo substrato comercial com adubação de base e casca de arroz carbonizada na proporção de 2:1(v/v) e mantidas em casa de vegetação climatizada com nebulização intermitente (temperatura de 24° ± 2°C e com umidade relativa do ar superior a 80%) por 60

dias (Anexo 21). Posteriormente, as estacas vivas foram transportadas para estufa de vidro, onde foram organizadas em bandejas com 224 células, mantendo espaçamento de uma célula entre os tubetes, visando um melhor desenvolvimento do minijardim. As minicepas do minijardim foram separadas em grupos conforme o material genético de origem (Anexo 21). Durante o período de desenvolvimento das minicepas, o qual somou um total de quatro meses, foram realizadas irrigações três vezes ao dia com duração de oito minutos cada.

### 5.2.2. Miniestaquia

No momento da coleta das brotações emitidas (setembro/2012) foi realizada uma avaliação da sobrevivência das minicepas e da produção de brotação/minicepa em cada matriz estudado, visando verificar diferenças entre as mesmas em relação à sobrevivência das mudas durante desenvolvimento das minicepas além de observar possíveis diferenças na emissão de brotações.

A metodologia utilizada para a realização da miniestaquia foi adaptada dos procedimentos utilizados pela Embrapa Florestas descritos por Wendling *et al.* (2005). As miniestacas foram confeccionadas com comprimento de 2,0 a 4,0 cm, mantendo-se duas folhas reduzidas no ápice, imediatamente acondicionadas em caixas de isopor contendo água para reduzir perdas por desidratação (Anexo 21). Não foi realizado tratamento fitossanitário, sendo cada material genético considerado como um tratamento (T), como se segue:

- T1: Matriz 49
- T2: Matriz 55
- T3: Matriz 57
- T4: Matriz 60
- T5: Matriz 41
- T6: Matriz 51
- T7: Matriz 52
- T8: Matriz 56
- T9: Matriz 58

Os tratamentos de 1 a 4 consistiram em minicepas oriundas de matrizes que apresentaram baixo enraizamento, em experimento de estaquia previamente realizado. Já os tratamentos de 5 a 9 consistiram em minicepas formadas a partir de ramos de matrizes com alto enraizamento.

Após a confecção, as miniestacas foram plantadas em tubetes de polipropileno com 50 cm<sup>3</sup>, contendo substrato comercial com adubação de base e vermiculita de granulometria fina em uma proporção de 2:1 (v/v) e mantidas em casa de vegetação climatizada com nebulização intermitente (temperatura de  $24^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e com umidade relativa do ar superior a 80%) (Anexo 21).

### 5.2.3. Variáveis avaliadas e análise dos dados

Transcorridos 40 dias após a instalação do experimento foram avaliadas as seguintes variáveis:

- Porcentagem de enraizamento (miniestacas vivas que apresentaram raízes de no mínimo 2 mm de comprimento, podendo ou não apresentar calos);
- Porcentagem de miniestacas com calos (miniestacas vivas, sem raízes, com formação de massa celular indiferenciada na base);
- Número total de raízes por miniestaca;
- Comprimento das três maiores raízes por miniestaca (cm);
- Porcentagem de sobrevivência (miniestacas vivas que não apresentaram indução radicial nem formação de calos);
- Porcentagem de mortalidade (miniestacas que se encontravam com tecidos necrosados).

Os dados foram analisados segundo um delineamento inteiramente casualizado com nove tratamentos (diferentes matrizes) e três repetições de 15 miniestacas por unidade experimental, somando 405 miniestacas. As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. As variáveis cujas variâncias se mostraram homogêneas tiveram suas médias submetidas à análise de variância, visando testar as hipóteses  $H_0$ : as diferentes matrizes de *Psychotria nuda* não apresentam diferenças em relação a formação de raízes adventícias em miniestacas e  $H_1$ : pelo menos uma das matrizes apresenta variação. As variáveis que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram processados pelo programa MSTAT, versão 2.11 (Michigan State University, 1989).

### 5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.3.1. Sobrevivência e produtividade das minicepas

A Tabela 3.1 apresenta o resultado da avaliação de sobrevivência e de produtividade de miniestacas em cada matriz testada. De modo geral, as matrizes pertencentes ao grupo com maior potencial de enraizamento (classificação realizada previamente) apresentaram valores maiores de sobrevivência, sendo elas 41, 51, 52, 56 e 58. Mesmo considerando os valores mais baixos de sobrevivência, verifica-se que minicepas de *Psychotria nuda* apresentam potencial para a produção de miniestacas em minijardim, considerando que as minicepas foram produzidas utilizando propagação vegetativa via estaquia.

TABELA 3.1 - Sobrevivência de minicepas e produtividade de brotações de *Psychotria nuda* por minicepa e por matriz, coletadas em setembro/2012.

Matriz	Sobrevivência (%)	Produção de miniestacas	Produção média de minestaca/minicepa
49	76,3	47	0,7
55	73,4	46	1,0
57	47,5	46	1,2
60	65,0	45	0,9
41	86,3	69	1,0
51	65,0	63	1,2
52	76,3	62	1,0
56	91,2	47	0,8
58	86,3	45	0,7

Como a coleta das brotações ocorreu somente em um momento, não foi possível verificar o potencial de regeneração vegetativa das minicepas em função de coletas sucessivas de brotações. A produção de miniestacas/minicepa entre as matrizes variou de 0,7 a 1,2 em recipientes de 50cm<sup>3</sup>. Pode-se inferir que o aumento na quantidade de substrato pode incrementar a produção de miniestacas para a espécie, uma vez que Ferriani (2006) obteve para *Piptocarpha angustifolia* variação de 1,1 a 2,5 miniestacas/minicepa/coleta, utilizando recipientes de 1700 cm<sup>3</sup> de substrato. Entretanto a produtividade de miniestacas por minicepa varia de acordo com a espécie, recipiente utilizado e período de coleta, uma vez que as variações climáticas podem interferir na qualidade do material vegetativo (FERRIANI *et al.*, 2010; HARTMANN *et al.*, 2011).

Comparando os resultados de produtividade de miniestacas/minicepas com diferentes espécies arbóreas nativas, Cunha *et al.* (2003) obtiveram média geral de produção de 2,5



miniéstacas por minicepa para *Erythrina falcata* Benth; para *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Lima *et al.* (2009) alcançaram 3,5 miniéstaca/minicepa; para *Vernonanthura petiolaris* (A. DC.) H. Rob. variou de 1,1 a 2,5 (FERIANI, 2006); e para *Cedrela fissilis* Vell., a produção de miniéstacas/minicepa/coleta variaram de 1,0 a 1,3 (XAVIER *et al.*, 2003). Para *Psychotria nuda* a produção é ligeiramente inferior, valor este que não ultrapassa 1,0 miniéstaca/minicepa, desconsiderando os materiais genéticos estudados (Tabela 3.1).

### 5.2.2. Miniestaquia

A Tabela 3.2 apresenta os resultados da análise de variância para as variáveis porcentagem de estacas enraizadas, com calos, vivas e mortas, onde pode-se verificar que somente para a mortalidade não ocorreram diferenças estatísticas entre os tratamentos. Para as demais variáveis, a análise indicou diferença estatística entre os materiais genéticos.

TABELA 3.2 - Análise de variância (teste F) para porcentagem de miniéstacas enraizadas, com calos, vivas e mortas provenientes de minicepas de *Psychotria nuda*, coletadas em setembro/2012.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio			
		Enraizadas	Calos	Vivas	Mortas
Matriz	8	613,521 <sup>**</sup>	233,260 <sup>*</sup>	43,687 <sup>*</sup>	144,389 <sup>ns</sup>
Erro	18	111,992	77,984	12,379	129,861
Total	26				
Coeficiente de variação (%)		13,15	119,28	88,87	139,73
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		9,623 <sup>ns</sup>	12,359 <sup>ns</sup>	1,726 <sup>ns</sup>	15,034 <sup>ns</sup>

\* = significativo a 5%; \*\* = significativo a 1%; <sup>ns</sup> = não significativo a 5%

O teste de comparação de médias detectou diferenças estatísticas entre os materiais somente para porcentagem de estacas enraizadas. Para a porcentagem de estacas com calos e vivas o teste de Tukey não indicou diferenças entre as médias (Tabela 3.3). Isso ocorre devido o teste de Tukey apresentar maior rigidez que outros testes de comparação de médias.

Com os resultados apresentados na Tabela 3.3, foi observado que *Psychotria nuda* pode ser considerada de fácil enraizamento quando comparada a outras espécies arbóreas nativas, uma vez que o enraizamento variou de 62,2 a 97,8%. Zuffellato-Ribas e Witt (2009) e Nery (2010), trabalhando com estacas provenientes de brotações do ano, relatam que *Psychotria nuda* apresenta enraizamento extremamente promissor. Entretanto, mesmo apresentando enraizamento satisfatório, observa-se que o processo de formação de raízes adventícias de *Psychotria nuda* é influenciado pelo material genético (Tabela 3.3). As

matrizes 57 e 60 apresentam as menores porcentagens de enraizamento 62,2%, valor que difere estatisticamente dos valores obtidos para as matrizes 51 e 56 (97,8%). Entre os demais materiais genéticos não houve diferenças significativas.

TABELA 3.3 - Porcentagens de miniestacas enraizadas, com calos, vivas e mortas provenientes de minicepas de *Psychotria nuda*, coletadas em setembro/2012.

Matriz	Enraizadas	Calos	Vivas	Mortas
49	71,1 ab	22,2 a	2,2 a	4,5
55	73,3 ab	15,5 a	8,9 a	2,2
57	62,2 b	17,8 a	8,9 a	11,1
60	62,2 b	6,7 a	8,9 a	22,2
41	91,1 ab	0,0 a	2,3 a	6,7
51	97,8 a	0,0 a	0,0 a	2,3
52	91,1 ab	0,0 a	2,3 a	6,7
56	97,8 a	0,0 a	0,0 a	2,2
58	77,8 ab	4,4 a	2,3 a	15,6

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Souza e Lima (2005), estudando o enraizamento de estacas de diferentes matrizes de *Spondias mombin*, obtiveram uma variação de enraizamento de 0 a 30%, sendo que os autores concluíram que essa variação foi de corrente da variabilidade genética. Entretanto, variação dos resultados para a formação de raízes adventícias, obtida pelos autores, pode ser resultado de outros fatores, como as condições ambientais que as mesmas foram submetidas, visto que as matrizes analisadas encontravam-se em condições de campo.

No presente estudo, cabe resaltar que a variação de enraizamento obtida para *Psychotria nuda* se deve somente à variação genética entre as matrizes testadas, uma vez que as minicepas, fonte do material para a confecção das miniestacas, estavam sob condições ambientais e nutricionais similares.

De maneira geral, cada material genético responde de maneira diferenciada à propagação vegetativa (HARTMANN *et al.*, 2011). Dentre as espécies com importância comercial, a influência da variação genética nos processos de propagação vegetativa é comprovada para diversas espécies. Para *Prunus persica* (L.) Batsch, Tofanelli *et al.* (2002) relatam respostas diferenciadas entre cultivares, quanto à capacidade de formar raízes adventícias em estacas, justificando que uma das principais explicações para este comportamento é a constituição gênica das cultivares que resulta em um potencial de enraizamento diferenciado entre elas. Diferenças na formação de enraizamento também foram observadas em cultivares de *Prunus salicina* Lindl., a qual apresentou porcentagens de

enraizamento variando de 40 a 70% (MINDÊLLO-NETO *et al.*, 2006). Segundo pesquisas realizadas por Tavares *et al.* (1992), as procedências e progênes de *Ilex paraguariensis* St. Hil. podem variar de 0 a 100% em seu enraizamento.

Para porcentagem de estacas com calos, vivas e mortas, não houve variação na resposta entre as matrizes, contudo observando os resultados da Tabela 3.3, verifica-se, numericamente, que as miniestacas oriundas de minicepas produzidas de matrizes com menor enraizamento (obtido em experimentos preliminares), apresentam as maiores porcentagens de estacas com calos, ou seja, os materiais 49, 55, 57 e 60. Essa resposta na formação de tecido caloso na base da estaca ocorre possivelmente pela diferença no balanço hormonal das matrizes citadas, as quais provavelmente apresentam proporções de citocininas e auxinas equivalentes, favorecendo assim a formação dessa massa celular indiferenciada (HARTMANN *et al.*, 2011).

Oliveira *et al.* (2010), trabalhando com cultivares de *Olea europaea* L., não obtiveram diferenças estatísticas entre as cultivares com relação à porcentagem de estacas com calos. Assim, o fator genético possivelmente apresenta menor influência sobre essa variável quando comparado à porcentagem de enraizamento.

A sobrevivência das miniestacas, mesmo não apresentando diferenças entre as médias, exibiu diferenças de comportamento frente aos dois grupos de matrizes. A menor porcentagem de estacas vivas foi observada no grupo com materiais com maior potencial genético para a formação do sistema radicial. A menor sobrevivência ocorrida nesse grupo é consequência da maior porcentagem de miniestacas enraizadas.

Com relação à porcentagem de miniestacas mortas, pôde-se observar que a espécie apresenta baixos valores, variando de 2,2 a 22,2%. Com relação ao material genético, a análise de variância não indicou diferenças estatísticas entre os mesmos. Para o número de raízes formadas e comprimento médio das três maiores raízes por miniestaca, a análise de variância apresentou diferença estatística entre os materiais genéticos para as duas variáveis (Tabela 3.4).

TABELA 3.4 - Análise de variância (teste F) para o número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes (cm) por miniestaca provenientes de minicepas de *Psychotria nuda*, coletadas em setembro/2012.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	
		Número	Comprimento
Matriz	8	12,158**	0,259**
Erro	18	1,217	0,013
Total	26		
Coeficiente de variação (%)		20,99	17,67
Teste de Bartlett ( $\chi^2$ )		4,768 <sup>ns</sup>	6,482 <sup>ns</sup>

\*\*= significativo a 1%; <sup>ns</sup> = não significativo a 5%

Com os resultados apresentados na Tabela 3.5, foi possível verificar que para o número de raízes formadas por miniestaca, duas matrizes apresentaram resultados superiores, sendo eles o 41 e 51, apresentando 8,3 e 7,2 raízes por miniestaca, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si. As duas matrizes citadas diferem estatisticamente das matrizes pertencentes ao grupo classificado com baixo potencial de enraizamento (49, 55, 57 e 60). Dentre os materiais genéticos com menor potencial de enraizamento, as matrizes 49 e 60 exibiram os menores valores para o número de raízes, com 2,7 e 2,8 raízes por miniestaca, respectivamente, sendo estatisticamente inferiores as demais matrizes testadas.

A variação no número de raízes formadas por miniestaca entre diferentes tipos de materiais genéticos também foi verificada por Tofanelli *et al.* (2002) em cultivares de *Prunus pérsica*. Entretanto, os autores obtiveram tal resultado somente quando foram utilizados tratamentos com reguladores vegetais para otimizar o enraizamento. Em estacas sem o uso de auxinas, a variação entre cultivares não foi verificada.

Para o comprimento das três maiores raízes por estaca, observa-se na Tabela 3.5 que dentre as matrizes analisadas, a 41 foi estatisticamente superior à maioria dos materiais, apresentando raízes com 1,13 cm de comprimento, valor que somente não apresentou diferença estatística da matriz 56. Para *Prunus salicina*, Tofanelli *et al.* (2002) obtiveram resultados variados para o comprimento de raízes formadas entre diferentes cultivares da espécie, ou seja entre fontes de material genético distintas, os melhores valores obtidos foram de 1,88 e 1,81cm, para cultivares superiores, e de 0,43cm para a cultivar com resultado inferior as demais estudadas.

TABELA 3.5 - Número de raízes e comprimento das três maiores raízes (cm) por miniestaca provenientes de minicepas de *Psychotria nuda*, coletadas em setembro/2012.

Matriz	Número	Comprimento
49	2,7 c	0,3 de
55	4,0 bc	0,5 cde
57	4,0 bc	0,6 cd
60	2,8 c	0,2 e
41	8,3 a	1,1 a
51	7,2 a	0,8 bc
52	6,1 ab	0,6 bc
56	7,0 ab	0,9 ab
58	5,3 abc	0,7 bc

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Considerando as variáveis ligadas ao sistema radicial, ou seja, porcentagem de enraizamento, número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes por estaca, é possível selecionar materiais genéticos superiores para essas características. Sendo assim, dentre os materiais genéticos de *Psychotria nuda* avaliados, as matrizes 41, 51, 56 apresentam superioridade no que se refere à formação e crescimento de raízes adventícias (Anexo 22 - C, D, E, F). A matriz 60 foi inferior aos demais em todas as variáveis relacionadas ao sistema radicial (Anexo 22 - A, B).

A variação de resposta dos diferentes materiais na iniciação e desenvolvimento do sistema radicial ocorre, possivelmente, por diferenças fisiológicas entre as matrizes, como variação no balanço hormonal e na quantidade de cofatores. Considerando uma possível diferença anatômica entre as cultivares, que justificasse a variação na porcentagem de enraizamento de *Olea europaea* L., Peixe *et al.* (2007) revelam a inexistência de diferenças significativas quanto à estrutura do caule. Entretanto, esses autores observaram que, para a cultivar que apresentou altos valores de enraizamento, a formação das raízes adventícias ocorreu diretamente do tecido do câmbio vascular e para a cultivar de difícil enraizamento, as raízes adventícias originaram-se do tecido dos calos.

Em espécies de difícil enraizamento é comum a formação de raízes adventícias a partir do tecido dos calos (HARTMANN *et al.*, 2011). Essa constatação pode ser utilizada dentro de uma mesma espécie que apresenta diferenças de enraizamento entre matrizes distintas. Diferenças na origem das raízes adventícias podem ocorrer devido a variações no balanço hormonal, uma vez que um meristema pode induzir diferentes tipos de diferenciação, sendo a regulação do processo dependente da proporção entre auxina e citocininas. Quando a quantidade de auxinas é maior em relação à de citocininas, são formados primórdios radiciais,

e quando a proporção é intermediária somente ocorre à formação de calos (HARTMANN *et al.*, 2011). Nesse contexto, evidencia-se a importância da condição fisiológica da matriz na variação da resposta a formação de raízes adventícias.

Com os resultados obtidos no presente estudo é evidente a influência do potencial genético da matriz de *Psychotria nuda* no processo de enraizamento das miniestacas, sendo a variação do comportamento de cada material decorrente somente do seu potencial individual, uma vez que devido à utilização de minijardim, como fonte do material vegetal, foi possível minimizar as variações ambientais, fator este que influencia diretamente matrizes localizadas no campo. Fatores ambientais, como variações de temperatura, umidade e fotoperíodo, e o local de desenvolvimento das plantas matrizes, interferem diretamente a formação e desenvolvimento do sistema radicial em estacas (ALFENAS *et al.* 2004; NEVES, *et al.*, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2008; HARTMANN *et al.*, 2011).

Foi observado ainda que a característica genética está entre os fatores que mais afeta a resposta de enraizamento de estacas provenientes de matrizes sob condições de campo, visto que as matrizes analisadas apresentaram resultados esperados frente à classificação inicialmente realizada, ou seja, um grupo com matrizes com potencial superior para a formação de raízes adventícias e outro com menor potencial para essa característica.

Entretanto, não se pode desconsiderar a influência dos demais fatores envolvidos no processo de estaquia, principalmente aqueles relacionados ao ambiente de desenvolvimento das plantas matrizes, pois, como relatado na literatura, vários são os fatores envolvidos nesse processo morfo-fisiológico, os quais atuam positivamente ou negativamente no resultado da indução radicial. Sendo assim, o conhecimento dos fatores envolvidos bem como suas interações, permite melhor explicar o sucesso ou fracasso da formação de raízes adventícias de uma espécie.

## 5.4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foi desenvolvido o presente estudo foi possível concluir que:

- A miniestaquia é uma técnica viável para a propagação vegetativa de *Psychotria nuda*;
- A seleção de materiais genéticos superiores, considerando o processo de enraizamento adventício, é possível;
- O processo de formação e desenvolvimento de raízes adventícias em miniestacas de *Psychotria nuda* é influenciado pelas características genéticas de cada planta matriz;
- A formação de calos, sobrevivência e mortalidade de miniestacas de *Psychotria nuda* não são influenciadas pelas características genéticas da espécie.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCANTARA, G. B.; OLIVEIRA, Y.; LIMA, D. M.; FOGAÇA, L. A.; PINTO, F.; BIASI, L. A. Efeito dos ácidos naftaleno acético e indolilbutírico no enraizamento de estacas de jambolão [*Syzygium cumini* (L.) Skeels]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 12, n. 3, p. 317-321, 2010.
- ALFENAS, A. C.; ZAURA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. de. **Clonagem e doenças do Eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 422 p.
- ALMEIDA, E. J. de; SCALOPII, E. M. T.; JESUS, N.; MARTINS, A. B. G. Propagação de jambeiro Vermelho (*Syzygium malaccense* L.) por estaquia de ramos herbáceos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, n. 1, p. 39-45, 2008.
- ALMEIDA, E. M. de; ALVES, M. A. S. Fenologia de *Psychotria nuda* e *P. Brasiliensis* (rubiacae) em uma área de Floresta Atlântica no Sudeste do Brasil. **Acta Botânica Brasília**, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 335-346, 2000.
- BONA, C. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; NAKASHIMA, T. Estaquia de três espécies de *Baccharis*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 1, p. 223-226, jan./fev. 2005.
- CORREA, G. **Controle genético do enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire)**. 69 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal - Silvicultura) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1995.
- CUNHA, A. C. M. C. M.; WENDLING, I.; SOUZA JÚNIOR, L. Miniestaquia em sistema de hidroponia e em tubetes de Corticeira-do-mato. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 18, n. 1, p. 85-92, jan./mar. 2008.
- CUNHA, A. C. M. C. da; WENDLING, I.; SOUZA JÚNIOR, L. **Influência da presença ou ausência de folhas no enraizamento de miniestacas de corticeira-do-mato (*Erythrina falcata* Bentham) obtidas em sistema hidropônico**. Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 5 p. (Comunicado Técnico, n. 89).
- DELPRETE, P. G.; SMITH, L. B.; KLEIN, R. M. R. **Flora Ilustrada Catarinense: Rubiaceae**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2005. v. 2.
- FARMER JR., R. E.; DURST, J. T.; SHAOTANG, D.; JUN-TAO, Y. Effects of clones, primary ramets, and age of stock plants on Tamarack rooting. **Silvae Genética**, Frankfurt, v. 41, n. 1, p. 22-24, 1992.



FERMINO JUNIOR, P. C. P.; PAULILO, M. T. S.; REIS, A.; SANTOS, M. Espécies pioneiras e climáticas da Floresta Ombrófila Densa: anatomia foliar comparada. **Insula**, Trindade, v. 33, p. 21-37, 2004.

FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 22 p. (Documentos, 94).

FERRIANI, A. P. **Estaquia de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén) com uso de ácido indol butírico**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I. Miniestaquia aplicada a espécies florestais. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 4, n. 2, p. 102-109, jul./dez. 2010.

FRAGOSO, V. **Alcalóides de Psychotria**: fotorregulação e propriedades antioxidantes e antimutagênicas. 102 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

GOMES, J. E.; PERECIN, D.; MARTINS, A. B. G.; IGNÁCIO, N. Enraizamento de estacas herbáceas de genótipos de acerola em câmara de nebulização intermitente tratadas com ácido indolbutírico em duas épocas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 407-412, 2000.

GORENSTEIN, M. R. Estrutura populacional de *Psychotria nuda* (Cham & Schltdl.) Wawra, *Hyeronima alchorneoides* Allemão e *Marlierea obscura* Berg. em floresta Ombrófila Densa Submontana na Ilha do Cardoso, litoral sul de São Paulo. In: PRÁTICA da Pesquisa em Ecologia da Mata Atlântica. Cananéia-SP, 2007. p. 1-6. Disponível em: <[http://ecologia.ib.usp.br/curso/2007/pdf/individuais/i\\_mauricio\\_romero.pdf](http://ecologia.ib.usp.br/curso/2007/pdf/individuais/i_mauricio_romero.pdf)>. Acesso em: 25/03/2012.

GRAÇA, M. E. C.; TAVARES, F. R. Propagação vegetativa de espécies florestais. In: GALVÃO, A. P. M. **Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivas e ambientais**: um guia para ações municipais e regionais. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; Colombo: Embrapa Florestas, 2000. p. 175-197.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JÚNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant Propagation**: principles and practices. 8. ed. New Jersey: Pretice Hall, 2011. 915 p.

IPARDES-INSTITUTO PARANAENSE DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL. **Zoneamento da APA de Guaraqueçaba**. Curitiba: IPARDES, 2001. 146 p.

LIMA, D. M.; TANNO, G. N.; PURCINO, M.; BIASI, L. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; ZANETTE, F. Enraizamento de miniestacas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek) em diferentes substratos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 617-623, mar./abr. 2009.

MICHIGAN STATE UNIVERSITY. Department of Agricultural Economics. Department of Crop and Soil Sciences. **MSTAT-C: Microcomputer Statistical Program - Version: 2.1**. East Lansing, 1989.

MINDÊLLO-NETO, U. N.; TELLES, C. A. T.; BIASI, L. A. Enraizamento de estacas lenhosas de ameixeiras tratadas com ácido indolbutírico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 448-452, mar./abr. 2006.

NERY, F. S. G. **Propagação vegetativa de *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae) nas quatro estações do ano**. 102 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

NEVES, T. dos S.; CARPANEZZI, A. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; MARENCO, R. A. Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variação sazonal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 12, p. 1699-1705, 2006.

OLIVEIRA, M. C.; VIEIRA NETO, J.; OLIVEIRA, R. S.; PIO, R.; OLIVEIRA, N. C.; RAMOS, J. D. Enraizamento de estacas de duas cultivares de oliveira submetidas à aplicação de diferentes fertilizantes. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 1, p. 99-103, 2010.

PEIXE, A.; SERRAS, M.; CAMPOS, C.; ZAVATTIERI, M. A.; DIAS, M. A. S. Estudo histológico sobre a formação de raízes adventícias em estacas caulinares de oliveira (*Olea europaea* L.). **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 30, n. 1, p. 476-482, 2007.

PRATA, E. M. B.; ASSIS, M. A.; JOLY, C. A. Composição florística e estrutura da comunidade arbórea na transição da Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas - Floresta Ombrófila Densa Submontana do Núcleo Picinguaba/PESM, Ubatuba, sudeste do Brasil. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 1-15, 2011.

RADOSTA, P.; PAQUES, L. E.; VERGER, M. Estimation of genetic and non-genetic parameters for rooting traits in hybrid larch. **Silvae Genética**, Frankfurt, v. 3, n. 2/3, p. 108-114, 1994.

ROJAS, P. V.; ARCE, P. J.; ARRIGADA, M. B. Propagación vegetativa por estacas en *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. **Ciência e Investigation Forestal**, Santiago, v. 1, n. 2, p. 1-9, 1987.

SILVA, R. L. da; OLIVEIRA, M. L. de; MONTE, M. A.; XAVIER, A. Propagação clonal de guanandi (*Calophyllum brasiliense*) por miniestaquia. **Agronomía Costarricense**, San Jose, v. 34, n. 1, p. 99-104, 2010.

SOUZA, F. X.; LIMA, R. N. Enraizamento de estacas de diferentes matrizes de cajazeira tratadas com ácido indolbutírico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 2, p. 189-194, maio/ago. 2005.

TAVARES, F. R.; PICHET, J. A.; MASCHIO, L. M. de A. Alguns fatores relacionados com a estaquia da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 7., Nova Prata, 1992. **Anais...** Nova Prata: UFSM, 1992. v. 2. p. 626-640.

TOFANELLI, M. B. D.; CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A.; CHALFUN JÚNIOR, A. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas e ramos semilenhosos de pessegueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 7, p. 939-944, jul. 2002.

TOFANELLI, M. B. D.; CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A.; CHALFUN JÚNIOR, A. Enraizamento de estacas lenhosas e semilenhosas de cultivares de ameixeira com várias concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 509-513, 2002.

VANHONI, F.; MENDONÇA, F. O clima do litoral do estado do Paraná. **Revista Brasileira de Climatologia**, Curitiba, v. 3/4, p. 49-63, ago. 2008.

WENDLING, I. **Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): estado da Arte e Tendências Futuras**. Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 45 p.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 2, p.289-292, 2007.

WENDLING, I.; FERRARI, M. P.; DUTRA, L. F. **Produção de mudas de corticeira-do-banhado por miniestaquia a partir de propágulos juvenis**. Colombo: Embrapa Florestas, 2005. 5 p. (Comunicado Técnico, n. 130).

XAVIER, A.; SANTOS, G. A.; OLIVEIRA, M. L. Enraizamento de miniestaca caular e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 351-356, 2003.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal**: princípios e técnicas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 272 p.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WITT, N. G. P. M. Potenziale medicinale di *Pisychotria nuda*: una possibilità di propagazione di piante madri selezionate. In: CONGRESSO NAZIONALE DI FITOTERAPIA, 15., 2009, Tivoli Terme (Roma). **Abstracts...** Siena, Itália: Società Italiana di Fitoterapia, 2009. p. 49-51.

## 6. CONCLUSÕES GERAIS

A propagação vegetativa via estaquia de *Psychotria nuda* é viável, com média de enraizamento ao redor de 74,6%, em qualquer fenofase que se encontram as plantas matrizes, sendo que em épocas com menor crescimento vegetativo se faz necessário um período maior que 60 dias no leito de enraizamento. O processo de enraizamento está intimamente relacionado ao comportamento fenológico, onde os melhores resultados ocorrem nas épocas em que as plantas matrizes apresentam maior quantidade de brotações foliares, chegando a 92%. A época reprodutiva da espécie não interfere na indução e desenvolvimento do sistema radicial, entretanto formação e desenvolvimento das brotações nas estacas são influenciados negativamente pela presença de flores e frutos;

Os ambientes de desenvolvimento das matrizes apresentam efeitos sobre o processo de formação de raízes, sendo que esse efeito ocorre de forma isolada ou de forma dependente com os efeitos das fenofases. Entretanto não se pode indicar qual o melhor ambiente de coleta das estacas, tendo em vista todo o processo da estaquia, devido à dependência de seus efeitos com as fenofases. Porém, considerando as variáveis principais relacionadas ao enraizamento (porcentagem de estacas enraizadas e comprimento das raízes), o ambiente encosta promoveu as melhores condições para a formação de raízes na maioria das fenofases.

Considerado as correlações entre as variáveis relacionadas ao sistema radicial com o desenvolvimento de brotações foliares em estacas, foi observado que o desenvolvimento de brotações foliares em estacas não prejudica a formação de raízes adventícias, adicionalmente pôde-se inferir que a formação do sistema aéreo das estacas colhidas em épocas de baixa atividade (fenofase 3 e 4) auxilia a formação do sistema radicial. A retenção foliar nas estacas durante sua permanência no leito de enraizamento favorece o enraizamento principalmente em estacas oriundas de matrizes com baixo crescimento vegetativo, sendo seu efeito mais correlacionável com a porcentagem de enraizamento.

A média geral de concentrações de nutrientes em *Psychotria nuda* apresenta a seguinte sequência decrescente de concentração  $N > Ca > K > Mg > P$  para os macronutrientes e  $Mn > Fe > B > Zn > Cu$  para os micronutrientes. Foi observado efeito de concentração em parte dos nutrientes avaliados, ou seja, as maiores concentrações ocorreram nos tratamentos com menor massa seca produzida.

Os ambientes de desenvolvimento das plantas matrizes influenciam os conteúdos de macro e micronutrientes, sendo que somente o conteúdo de N não apresentou diferenças frente aos ambientes; no geral as matrizes localizadas no ambiente encosta apresentaram

maiores conteúdos de nutrientes. Para as épocas de coleta, mesmo com a influência dos ambientes em determinadas condições, foi possível verificar alguns padrões de resposta do conteúdo nutricional da espécie. Os macronutrientes, com exceção do N, apresentam variações relacionadas ao crescimento vegetativo da espécie, onde para o P, Ca e Mg os menores conteúdos foram observados em épocas de menor atividade vegetativa, enquanto o K apresentou valores superiores nessas épocas. Já os micronutrientes estão relacionados ao período reprodutivo das matrizes, uma vez que em épocas com a maior quantidade de flores e frutos também são verificados os menores conteúdos foliares de Zn, Fe e Cu, enquanto o B é favorecido por épocas com a presença de estruturas reprodutivas.

A maior eficiência de conversão para os macronutrientes foi obtida para P e a menor eficiência para o N, para os micronutrientes o Cu apresentou maior índice de eficiência e o Mn foi o elemento utilizado de forma menos eficiente pelas matrizes de *Psychotria nuda*. Com relação ao ambiente de desenvolvimento, conclui-se que o efeito ambiental é mais evidente dentre os macronutrientes, sendo que a encosta, no geral, apresenta matrizes com maiores índice de eficiência de conversão. Já para os micronutrientes, o efeito do ambiente sobre a eficiência depende do nutriente analisado e das fenofases em que as matrizes se encontram.

Com a relação entre variáveis nutricionais e as biométricas pode-se concluir que a nutrição mineral das matrizes de *Psychotria nuda* influencia no processo de estaquia, de modo que as correlações obtidas variam dependendo da fenofase da planta matriz e do ambiente de desenvolvimento. Dentre as variáveis relacionadas ao sistema radicial adventício, somente para o comprimento das três maiores raízes houve correlações acima de 0,6, sendo a variável prejudicada pelas maiores concentrações de Ca e B. Já entre as variáveis do sistema aéreo das estacas, o comprimento das três maiores brotações foi a única que apresentou coeficientes acima de 0,6, sendo a variável favorecida pelo N, e prejudicada pela maior concentração de Ca e pela maior relação C/N.

Com o estudo anatômico de estacas de *Psychotria nuda* pôde-se concluir que a espécie apresenta características foliares típicas de plantas de ambiente sombreado, tais como: células epidérmicas recobertas por delgada camada cuticular, parênquima paliádico voltado apenas para a face adaxial da lâmina e amplos espaços intercelulares no mesofilo. Não houve diferenças marcantes em relação à estrutura interna do caule em estacas provenientes de matrizes localizadas nos dois tipos de ambientes, os quais apresentaram epiderme unisseriada, fibras isoladas no periciclo e xilema contínuo com elementos condutores na sua maioria solitários.

As raízes adventícias originaram-se diretamente do câmbio vascular, não tendo sido observado formação de raízes do tecido dos calos, os quais ocorreram nas regiões do câmbio, da medula e no córtex . Anatomicamente *Psychotria nuda* pode ser considerada uma espécie de fácil enraizamento, devido à alta atividade cambial, a formação das raízes adventícias diretamente do câmbio e a reduzida quantidade de tecidos esclerificados na região periférica do cilindro central.

O processo de formação e desenvolvimento de raízes adventícias em miniestacas de *Psychotria nuda* é influenciado pelas características genéticas de cada planta matriz, sendo a seleção de materiais genéticos superiores, para aquela característica possível para a espécie. Já para formação de calos, sobrevivência e mortalidade de miniestacas não foram identificadas influência das matrizes estudadas.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização da *Psychotria nuda* como modelo para estudar fatores envolvidos na formação de raízes adventícias em estacas pode ser recomendada uma vez que a espécie apresenta características como alta quantidade de indivíduos em áreas nativas, distribuição em diferentes ambientes de desenvolvimento, fácil identificação no campo, quantidade de material vegetal satisfatório para a coleta, matrizes com alturas máximas aproximadas de 7 metros que facilita a coleta, e principalmente, alto enraizamento em todas as épocas de coleta, não sendo necessário nenhum tratamento subsequente para induzir a formação de raízes.

Realizando uma abordagem geral entre os fatores analisados nos três capítulos e utilizando a *Psychotria nuda* como modelo, algumas considerações podem ser descritas.

Todos os fatores estudados apresentaram efeito sobre o processo de estaquia, sendo comprovada a relação entre parte destes, como, por exemplo, entre os ambientes de desenvolvimento e as fenofases. Entretanto dentre os fatores o potencial genético destaca-se, visto que as diferenças de enraizamento foram evidentes entre matrizes.

Nos estudos sobre estaquia de espécies nativas, frequentemente, as coletas são realizadas em diversas matrizes, as quais nem sempre estão localizadas em uma mesma área. Com os ramos coletados, independentemente da matriz que foi coletado, são confeccionadas estacas as quais são submetidas a tratamentos. Com os resultados obtidos no presente trabalho verificou-se que o potencial genético apresenta grande influência sobre a resposta de enraizamento. Assim, quando se necessita precisão nos resultados de enraizamento, principalmente quando objetivo é a realização de um protocolo de produção de mudas de nativas via estaquia, o fator genético deve ser considerado, antes de se recomendar um tratamento com reguladores ou sugerir uma melhor forma de confeccionar a estaca. Da mesma forma que o potencial genético, os ambientes de coleta apresentam importância no processo de estaquia, entretanto novos estudos devem ser realizados, utilizando novos ambientes.

As fenofases, as quais podem ser chamadas de épocas de coleta, estão dentre os fatores mais estudados quando se trata da estaquia de nativas; entretanto pôde-se verificar no presente trabalho que, além do efeito direto sobre a formação de raízes adventícias, respostas distintas ocorrem relação entre determinados fatores. A influência dos fatores relacionados ao período em que as estacas permaneceram no leito de enraizamento, como a formação de brotação e manutenção das folhas nas estacas, é menor em épocas em que as matrizes apresentam melhores condições para a formação do sistema radicial. Contudo, quando a estaquia é



realizada em épocas em que as matrizes apresentam menor potencial para o desenvolvimento de raízes, é possível verificar a importância desses fatores no processo. Assim para uma mesma espécie o método de estaquia pode variar dependendo da época de coleta. Essa resposta aparentemente ocorre quando se considera o fator ambiente de coleta, onde o efeito do ambiente parece ser mais evidente em épocas menos favoráveis.

Quando o objetivo é estudar diferentes épocas de coleta na resposta de enraizamento de estacas, a utilização das fenofases das espécies para definir os períodos de coleta se torna mais eficiente, visto que as mudanças nas fenofases ocorrem seguindo as mudanças ambientais, sendo que cada espécie responde de forma diferenciada a essas mudanças. Assim, quando se utiliza estações do ano, dependendo da espécie, pode-se correr o risco de se estudar épocas com características fenológicas similares ou até mesmo perder épocas com características diferenciadas entre uma estação e outra.

A nutrição mineral apresentou influência sobre o processo de enraizamento, sendo que mesmo com a influência de vários fatores sobre o processo, uma vez que as análises nutricionais foram realizadas em matrizes localizadas em ambientes naturais, as relações obtidas foram satisfatórias. Os resultados obtidos podem ser utilizados como base para futuros trabalhos sobre a influência do fator nutricional sobre o processo de estaquia de espécies nativas. A fim de aprofundar o entendimento sobre a influência da nutrição na formação de raízes adventícias, trabalhos sobre a mobilização dos nutrientes durante o enraizamento e suas funções nas fases de indução e desenvolvimento radicial são necessários. Entretanto alguns obstáculos devem ser superados para que se possa isolar e caracterizar os nutrientes em cada fase do processo, sendo que a grande dificuldade nesse tipo de estudo se deve a complexidade e interação existente tanto entre os nutrientes envolvidos quanto hormônios, enzimas e outras substâncias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADJIBADÉ, Y.; HUE, B.; PELHATE, M.; ANTON, R. Action of calycanthine on nervous transmission in cockroach central nervous system. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 57, n. 2, p. 99-101, Apr. 1991.

ALCANTARA, G. B.; OLIVEIRA, Y.; LIMA, D. M.; FOGAÇA, L. A.; PINTO, F.; BIASI, L. A. Efeito dos ácidos naftaleno acético e indolilbutírico no enraizamento de estacas de jambolão [*Syzygium cumini* (L.) Skeels]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 3, p. 317-321, 2010.

ALFENAS, A. C.; ZAURA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. de. **Clonagem e doenças do Eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 422 p.

ALMEIDA, E. J. de; SCALOPII, E. M. T.; JESUS, N.; MARTINS, A. B. G. Propagação de jambeiro Vermelho (*Syzygium malaccense* L.) por estaquia de ramos herbáceos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, n. 1, p. 39-45, 2008.

ALMEIDA, E. M. de. **Ecologia reprodutiva e comportamento dos visitantes florais e dos frugívoros em duas espécies de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em uma área de Floresta Atlântica, Ilha Grande, Rio de Janeiro**. 102 p. Tese (Doutorado em Biologia) - Instituto de Biologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

ALMEIDA, E. M. de; ALVES, M. A. S. Fenologia de *Psychotria nuda* e *P. Brasiliensis* (rubiceae) em uma área de Floresta Atlântica no Sudeste do Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 335-346, 2000.

ASSIS, T. F. de; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, 1998. v. 1, p. 261-296.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H. C. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Viçosa: Editora da UFV, 1991. v. 3, 326 p.

BASTOS, D. C.; SCARPARE-FILHO, J. A.; FATINANSI, J. C.; PIO, R. Influência da idade biológica da planta matriz e do tipo de estaca caulinar de caramboleira na formação de raízes adventícias. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 1915-1918, 2009. Edição especial.

BIASI, L. A.; STOLTE, R. E.; SILVA, M. F. da. Estaquia de ramos semilenhosos de pessegueiro e nectarineira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 421-425, 2000.

BITENCOURT, J. **Propagação vegetativa de *Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae)**. 95 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

BLAKESLEY, D.; WESTON, G. D.; ELLIOTT, M. C. Endogeneous levels of indole-3-acetic acid and abscisic acid during the rooting of *Cotinus coggygria* cuttings taken at different times of the year. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 10, p. 1-12, 1991.

BONA, C. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; NAKASHIMA, T. Estaquia de três espécies de *Baccharis*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 1, p. 223-226, jan./fev. 2005.

BONA, C. M.; HÖGER FILHO, G.; AUGUSTO, C. S. S.; BIASI, L. A. Propagação de *Ligustrum sinense* por estaquia semilenhosa. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 3, n. 1-2, p. 25-28, 2002.

BORTOLINI, M. F. **Uso de ácido indol butírico na estaquia de *Tibouchina sellowiana* (cham.) Cogn.** 85 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

BORTOLINI, M. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S.; CARPANEZZI, A. A.; DESCHAMPS, C.; OLIVEIRA, M. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. S. *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.: enraizamento, anatomia e análises bioquímicas nas quatro estações do ano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 18, n. 2, p. 159-171, abr./jun. 2008.

BUDOWSKI, G. Distribution of tropical American rain forest species in the light of sucessional processes. **Turrialba**, Costa Rica, v. 15, n. 1, p. 40-42, jan./mar., 1965.

CARMEN, P. The propagation of Australian Native Plants from Cuttings at the Australian National Botanic Gardens. **International Plant Propagators Society**, Carlisle, v. 43, p. 60-63, 1993.

CARVALHO, C. M.; CUNHA, R. J. P.; RODRIGUES, J. D. Enraizamento de estacas semilenhosas de lichieira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, p. 95-97, 2005.

CARVALHO, R. I. de; SILVA, I. D. da; FAQUIM, R. Enraizamento de miniestacas herbáceas de maracujazeiro amarelo. **Semina**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 387-392, jul./set. 2007.

CASTRO, C. C.; ARAÚJO, A. C. Distyly and sequential pollinator of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the Atlantic rain Forest, Brazil. **Plant Systematics and Evolution**, New York, n. 244, p.131-139, 2004.

CHIQUEIRI, A.; DI MAIO, F. R.; PEIXOTO, A. L. A distribuição geográfica da família Rubiaceae Juss. na Flora Brasileira de Martius. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 84, p. 47-57, 2004.

CUNHA, A. C. M. C. M.; PAIVA, H. N.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Papel da nutrição mineral na formação de raízes adventícias em plantas lenhosas. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 58, p. 35-47, 2009.

DAY, J. S.; LOVEYS, B. R. Propagation from cuttings of two Woody ornamental Australian shrubs, *Boronia megastigma* Nees (Brown boronia) and *Hypocalymma angustifolium* Endl. (White myrtle). **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v. 38, p. 201-206, 1998.

DE SOUZA, P. A. Alcalóides e o chá de ayahuasca: uma correlação dos “estados alterados da consciência” induzido por alucinógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 3, p. 349-358, 2011.

DELPRETE, P. G.; SMITH, L. B.; KLEIN, R. M. R. **Flora Ilustrada Catarinense: Rubiaceae**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2005. v. 2.

ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; ALBUQUERQUE, R. R.; NUNES, D. S.; CARVALHO, A. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. Ex R. & S.) Mull. Arg. Alkaloids. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 48, p. 77-83, 1995.

EMBRAPA-EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Brasília: Embrapa, 2006. 306 p.

EMBRAPA-EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação dos Solos e Projeto Especial de Levantamentos de Solos. **Levantamento de reconhecimento de solos do Estado do Paraná**. Londrina: EMBRAPA-SNLCS/IAPAR, 1984. 791p. (Boletim de Pesquisa, n. 27)

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. Propagação vegetativa por estaquia. In: FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa, 2005. p. 69-109.

FASOLO, P. J.; BOGNOLA, I. A.; CARVALHO, A. P.; POTTER, R. O.; BHERING, S. B. **Levantamento de reconhecimento dos solos da região Sudeste do Estado do Paraná (áreas 4, 5 e 6).** Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002. 143 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 13).

FERMINO JUNIOR, P. C. P.; PAULILO, M. T. S.; REIS, A.; SANTOS, M. Espécies pioneiras e climáticas da Floresta Ombrófila Densa: anatomia foliar comparada. **Insula**, Trindade, v. 33, p. 21-37, 2004.

FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais.** Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 22 p. (Documentos, 94).

FERREIRA, B. G. A. **Propagação de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax por estaquia, miniestaquia e sementes.** 149 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

FERREIRA, B. G. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; BOEGER, M. R. T.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. pela aplicação de ácido indol butírico e ácido bórico. **Leandra**, Rio de Janeiro, v. 16, p. 11-16, 2001.

FERRIANI, A. P. **Estaquia de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén) com uso de ácido indol butírico.** 99 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia- Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

FOCHESATO, M. L.; MARTINS, F. T.; SOUZA, P. V. D.; SCHWARZ, S. F.; BARROS, I. B. I. Propagação de louro (*Laurus nobilis* L.) por estacas semilenhosas com diferentes quantidades de folhas e tratadas com ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 72-77, 2006.

FRAGOSO, V. **Alcalóides de *Psychotria*: Fotorregulação e propriedades antioxidantes e antimutagênicas.** 102 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

FRANÇA, S. C. Abordagens biotecnologias para a obtenção de substâncias ativas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 6. ed. Porto Alegre: Editora da Universidade UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. p. 123-146.

FRASSETTO, E. G. **Enraizamento adventício de estacas de *Sebastiania schottiana* Müll. Arg.** 115 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal - Silvicultura) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica no período de 2008-2010.** São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica/INPE, 2011.

GARBUIO, C.; BIASI, L. A.; KOWALSKI, A. P. J. Propagação por estaquia em Patchouli com diferentes números de folhas e tipos de estacas. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 435-438, 2007.

GORENSTEIN, M. R. Estrutura populacional de *Psychotria nuda* (Cham & Schltdl.) Wawra, *Hyeronima alchorneoides* Allemão e *Marlierea obscura* Berg. em floresta Ombrófila Densa Submontana na Ilha do Cardoso, litoral sul de São Paulo. In: PRÁTICA da Pesquisa em Ecologia da Mata Atlântica. Cananéia-SP, 2007. p. 1-6. Disponível em: <[http://ecologia.ib.usp.br/curso/2007/pdf/individuais/i\\_mauricio\\_romero.pdf](http://ecologia.ib.usp.br/curso/2007/pdf/individuais/i_mauricio_romero.pdf)>. Acesso em: 25/03/2012.

HANSEN, J. Influence of cutting position and temperature during rooting on adventitious root formation and axillary bud break of *Stephenotis floribunda*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 40, p. 345-354, 1990.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JÚNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant Propagation: principles and practices.** 8. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2011. 915 p.

HENRIQUES, A. T.; LOPES, S. O.; PARALHOS, J. T.; GREGIANINI, T. S.; VON POSER, G. L.; FETT-NETO, A. G.; SCHRIPEMA, J. N. B-d-glucopyranosyl vincosamide, a light regulated indole alkaloid from *Psychotria leiocarpa*. **Phytochemistry**, New York, v. 65, n. 4, p. 449-454, Feb. 2004.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. Nutritional monitoring and fertilization in clonal macro-, mini-, and microgardens. In: GONÇALVES, J. L. M.; BENEDETI, V. (Ed.). **Forest nutrition and fertilization.** Piracicaba: IPEF, 2004. p. 195-221.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais. **Manual técnico da vegetação brasileira.** Rio de Janeiro: IBGE, 1992. 22 p. (Manuais Técnicos de Geociências, n. 1).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Mapa da Área de Aplicação da Lei nº 11.428 de 2006.** Brasília, 2008. Escala 1:5.000.000.

ITOH, A.; YAMAKURA, T.; KANZAKI, M.; OHKUBO, T.; PALMIOTTO, P. A.; LaFRANKIE, J. V.; KENDAWANG, J. J.; LEE, H. S. Rooting ability of cuttings relates to phylogeny, habitat preference and growth characteristics of tropical rainforest trees. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 168, p. 275-287, 2002.

IZA, O. B. **Parâmetros de autoecologia de uma comunidade arbórea de Floresta Ombrófila Densa, no Parque Botânico do Morro Baú, Ilhota, SC. Santa Catarina.** 92 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

JANICK, J. **A ciência de horticultura.** Rio de Janeiro: USAID, 1966. 485 p.

JOLY, C. A.; AIDAR, M. P. M.; KLINK, C. A.; McGRATH, D. G.; MOREIRA, A. G.; MOUTINHO, P.; NEPSTAD, D. C.; OLIVEIRA, A. A.; POTT, A.; RODAL, M. J. N.; SAMPAIO, E. V. S. B. Evolution of the Brazilian phytogeography classification systems: implications for biodiversity conservation. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 51, n.5/6, p. 331-348, 1999.

KERSTEN, E.; TAVARES, S. W.; NACHTIGAL, J. C. Influencia do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de ameixeira (*Prunus salinina*, Lindl.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 16, n. 1, p. 215-22, 1994.

KIBBLER, H.; JOHNSTON, M. E.; WILLIAMS, R. R. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell 2, seasonal influences of temperature, rainfall, flowering and auxins on the stock plant. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 102, n. 3, p. 343-358, Nov. 2004.

KLEIN, D. E.; MORAES, T. M. S.; MIGUEL, E. C.; SILVA, A. de S. da; ALEXANDRINO, C. R.; MORAES, D. G.; DA CUNHA, M. Micromorfologia da superfície aérea de *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 729-731, jul. 2007.

KNAPIK, J. G.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; KOEHLER, H. S. Influência da época e da aplicação de ácido indol butírico na propagação por estaquia da *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn. (quaresmeira). **Iheringia**, Porto Alegre, v. 58, n. 2, p. 171-179, jul./dez. 2003.

LAMEIRA, O. A. **Cultivo de Ipecacuanha [*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes].** Belém: Embrapa Amazônica, 2002. 4 p. (Circular Técnica, 28).

LEAL, M. B. **Estudo psicofarmacológico de espécies de *Psychotria* (RUBIACEAE) do Estado do Rio Grande do Sul**. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1994.

LEAL, M. B.; ELIZABETSKY, E. Absence of alkaloids in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 54, p. 37-40, 1996.

LIMA, D. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. S. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 13, n. 4, p. 422-438, 2011.

LIMA, R. L. S. de; SIQUEIRA, D. L.; WEBER, O. B.; CAZETTA, J. O. Comprimento de estacas e parte do ramo na formação de mudas de aceroleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 83-86, 2006.

LIMA, R. L. S. de; SEVERINO, L. S.; PEREIRA, W. E.; LUCENA, A. M. A. de; GHEYI, H. R.; ARRIEL, N. H. C. Comprimento das estacas e parte do ramo para formação de mudas de pinhão-mansão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 11, p. 1234-1239, 2010.

LIU, Z.; QI, J. L.; CHEN, L.; ZHANG, M. S.; WANG, X. Q.; PANG, Y. J.; YANG, Y. H. Effect of light on gene expression and shikonin formation in cultured *Onosma paniculatum* cells. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 84, n. 1, p. 39-46, 2006.

MALAVASI, U. C. Macropropagação vegetativa de coníferas - perspectivas biológicas e operacionais. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 1, p. 131-135, 1994.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

MARCHESE, J. A.; PISSAIA, E.; BOCCHESI, V. C. C.; CAMBRUZZI, E.; COLUSSI, G.; HART, V.; MAGIERO, E. C. Estacas de diferentes diâmetros na propagação de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. – Verbenaceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 12, n. 4, p. 506-509, 2010.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.



MAYER, J. L. S.; BIASI, L. A.; BONA, C. Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis* L. (Vitaceae) relacionada com os aspectos anatômicos. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 20, n. 3, p. 563-568, 2006.

MCKENNA, D. Clinical investigations of the therapeutic potential of ayahuasca: rationale and regulatory challenges. **Pharmacology & Therapeutics**, Oxford, v. 102, n. 1, p. 111-129, 2004.

MELO, L. A. **Estudo da propagação vegetativa e das alterações morfoanatômicas de plantas de *Cestrum leavigatum* – coerana - submetidas ao déficit hídrico e à hipoxia.** 2007. 78 p. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

MINDÉLLO NETO, U. R. Estaquia herbácea de pessegueiro cv. Charme, em função de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) e número de folhas. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, p. 27-29, 2006.

MORAES, L. F. D.; PEREIRA, T. S. Restauração ecológica em unidades de conservação. In: KAGEYAMA, P. Y.; OLIVEIRA, R. E.; MORAES, L. F. D.; ENGEL, V. L.; GANDARA, F. B. **Restauração ecológica de ecossistemas naturais.** Botucatu: FEPAF, 2003. p. 297-305.

MORENO, P. R. H.; AGRIPINO, D. G.; LIMA, M. E. L.; SILVA, M. G. da; MEDA, C. F.; BOLZANI, V. da S.; CORDEIRO, S.; YOUNG, M. C. M. Screening of brazilian plants for antimicrobial and dnadamaging Activities. I. Atlantic rain forest. Ecological Station juréia-itatins. **Biota Neotropia**, Campinas, v. 4, n. 2, p. 1-15, 2004.

MORI, S. A.; BOOM, B. M.; PRANCE, G. T. Distribution patterns and conservation of Eastern Brazilian Coastal Forest tree species. **Brittonia**, Bronx, v. 33, n. 2, p. 233-245, 1981.

NASCIMENTO, E. A.; OLIVEIRA, L. E. M.; CASTRO, E. M.; DELÚ, N. F.; MESQUITA, A. C.; VIEIRA, C. V. Alterações morfofisiológicas em folhas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) consorciado com seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 852-857, 2006.

NERY, F. S. G. **Propagação vegetativa de *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae) nas quatro estações do ano.** 102 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

NEVES, T. dos S.; CARPANEZZI, A. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; MARENCO, R. A. Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variação sazonal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 12, p. 1699-1705, 2006.

NEWSTRON, L. E.; FRANKIE, G. W.; BAKER, H. G. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in Lowland Tropical Rain Forest Trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica**, Washington, v. 26, p. 141-159, 1994.

NOOR CAMELLIA, N. A.; THOHIRAH, L. A.; ABDULLAH, N. A. P.; MOHD KHIDIR, O. Improvement on rooting quality of *Jatropha curcas* using indole butyric acid (IAB). **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, Ma'an, v. 5, n. 4, p. 338-343, 2009.

OLIVEIRA, M. C.; VIEIRA NETO, J.; OLIVEIRA, R. S.; PIO, R.; OLIVEIRA, N. C.; RAMOS, J. D. Enraizamento de estacas de duas cultivares de oliveira submetidas à aplicação de diferentes fertilizantes. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 1, p. 99-103, 2010.

OLIVEIRA, R. R. Ação antrópica e resultantes sobre a estrutura e composição da Mata Atlântica na Ilha Grande, RJ. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 53, p. 33-58, 2002.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; FONTES, M. A. L. Patterns of Floristic Differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the Influence of Climate. **Biotropica**, Washington, v. 32, n. 4b, p. 793-810, 2000.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: Funep, 1996. 83 p.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa: UFV, 2005. 46 p. (Caderno didático, 83).

PARKS, B. M. The red side of photomorphogenesis. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 133, p. 1437-1444, 2003.

PIETROBOM, R. C. V.; PAOLI, A. A. S.; BIERAS, A. C. Morfologia de plântulas de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. (Rubiaceae). **Naturalia**, Rio Claro, v. 33, p. 110-116, 2010.

PIMENTA, A. C.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; OLIVEIRA, B. H.; CARPANEZZI, A. A.; KOEHLER, H. S. Interações entre reguladores vegetais, épocas do ano e tipo de substrato no enraizamento de estacas caulinares de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 50, p. 53-67, jan./jun. 2005.

PIO, R.; RAMOS, J. D.; CHALFUN, N. N. J.; GONTIJO, T. C. A.; MENDONÇA, V.; CARRIJO, E. P.; CHAGAS, E. A. Propagação de estacas apicais de figueira: diferentes ambientes, ácido indolbutírico e tipo de estaca. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 1021-1026, 2006.

PIRES, A. P. S.; OLIVEIRA, C. D. R.; YONAMINE, M. Ayahuasca: revisão farmacotoxicológica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 31, n. 1, p. 15-23, 2010.

PRADO, H. **A pedologia simplificada**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1995. 16 p. (Arquivo do agrônomo, n. 1).

PRATA, E. M. B.; ASSIS, M. A.; JOLY, C. A. Composição florística e estrutura da comunidade arbórea na transição da Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas - Floresta Ombrófila Densa Submontana do Núcleo Picinguaba/PESM, Ubatuba, sudeste do Brasil. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 1-15, 2011.

PROGRAMA PROTEÇÃO DA MATA ATLÂNTICA (PRÓ-ATLÂNTICA). **Atlas da Floresta Atlântica no Paraná**: área de abrangência do programa proteção da Floresta Atlântica. Curitiba: SEMA/Programa Proteção da Floresta Atlântica, 2005. 104 p.

RAMOS, E.; TORRES, R. B.; VEIGA, R. F. A.; JOLY, C. A. Estudo do componente arbóreo de dois trechos da Floresta Ombrófila Densa Submontana em Ubatuba (SP), **Biota Neotropica**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 1-22, 2011.

RAVAZANNI, C.; FAGNANI, J. P.; KOCH, Z. **Mata Atlântica**: Atlantic rain forest. Curitiba: Brasil Natureza, 1995. 109 p.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. Raiz: estrutura e desenvolvimento. In: \_\_\_\_\_. **Biologia vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. p. 546-562.

REZENDE, A. A. **Enraizamento de estacas de candeia *Eremanthus erytropappus* (DC.) MacLeish**. 75 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J.; HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, Essex, v. 142, p. 1141-1153, 2009.

ROBBRECHT, E.; DE BLOCK, P.; DEGREEF, J.; STOFFELEN, P. Monographic and systematic studies in Rubiaceae. Disponível em: <<http://www.br.fgov.be/RESEARCH/PROJECTS/rubiaceae.php>>. Acesso: 14/03/2012.

RODERJAN, C. V.; GALVÃO, F.; KUNIYOSHI, Y. S.; HATSCHBACH, G. G. As Unidades Fitogeográficas do Estado do Paraná, Brasil. **Revista Ciência e Ambiente**, Curitiba, v. 24, p. 75-92, jan./jun. 2002.

ROSA, S. G. T. da; FERREIRA, A. G. Germinação de sementes de plantas medicinais lenhosas. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 147-154, 2001.

RUFATO, L.; KERSTEN, E. Enraizamento de estacas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch), cvs. Esmeralda e BR 2, submetidas à estratificação e ao ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 191-194, 2000.

SANCHOTENE, M. C. C. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. Porto Alegre, FEPLAM, 1985.

SANTOS, J. P.; DAVIDE, A. C.; TEIXEIRA, L. A. F.; MELO, A. J.; MELO, L. M. Enraizamento de estacas lenhosas de espécies florestais. **Revista Cerne**, Lavras, v. 17, n. 3, p. 293-301, 2011.

SASSO, S. A. Z.; CITADIN, I.; DANNER, M. Propagação de Jaboticabeira por estaquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 577-583, 2010.

SCHORN, L. A.; GALVÃO, F. Dinâmica da regeneração natural em três estágios sucessionais de uma floresta ombrófila densa em Blumenau, SC. **Floresta**, Curitiba, v. 36, n. 1, p. 59-74, jan./abr. 2006.

SEMA-SECRETARIA DE ESTADO DO MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS. **Mapeamento da Floresta Atlântica do Estado do Paraná**: Cartilha de Apoio à Interpretação das Cartas de Vegetação. Curitiba: SEMA, 2002. 40 p.

SHINZATO, E.; CARVALHO-FILHO, A. **Projeto APA Sul RMBH**: estudos do meio físico, pedologia. Belo Horizonte: CPRM/EMBRAPA/SEMAD, 2005. 55 p.

SIDDIQI, M.; GLASS, A. D. M. Utilization Index: A modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Jornal of Plant Nutrition**, New York, v. 4, n. 3, p. 289-302, 1981.

SILVA, E. F.; MACEDO, J. R.; MANZATTO, H. R. H.; CAPECHE, C. L.; PRADO, R. B. **Levantamento detalhado dos solos da Fazenda Angra-PESAGRO-Rio: estação experimental de Campos.** Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2003. 93 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 38).

SILVA, L. M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V. J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botânica Brasilica**, Feira de Santana, v. 19, n. 1, p. 183-194, 2005.

SILVA, M. O. C. C. B. da. **Estaquia caulinar de *Ateleia glazioveana* Bailonm Leguminosae – Papilionoideae.** 101 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

SOUZA, F. X.; LIMA, R. N. Enraizamento de estacas de diferentes matrizes de cajazeira tratadas com ácido indolbutírico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 2, p. 189-194, maio/ago. 2005.

SOUZA, J. R. P.; MEHL, H. O.; RODRIGUES, J. D.; PEDRAS, J. F. Sombreamento e o desenvolvimento e produção de rabanete. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 37-57, out. 1999.

SPVS-SOCIEDADE DE PESQUISA EM VIDA SELVAGEM E EDUCAÇÃO AMBIENTAL. **Plano de Manejo da Reserva Particular do Patrimônio Nacional: Morro da Mina e Santa Maria**, 2002. Disponível em: <[http://www.uc.pr.gov.br/arquivos/File/RPPN/Planos\\_de\\_Manejo/RPPN\\_Morro\\_da\\_Mina\\_e\\_Santa\\_Maria/PLANO\\_MANEJO\\_RESERVA\\_NATURAL\\_MORRO\\_DA\\_MINA\\_E\\_SANT\\_A\\_MARIASPVS\\_iap1.pdf](http://www.uc.pr.gov.br/arquivos/File/RPPN/Planos_de_Manejo/RPPN_Morro_da_Mina_e_Santa_Maria/PLANO_MANEJO_RESERVA_NATURAL_MORRO_DA_MINA_E_SANT_A_MARIASPVS_iap1.pdf)> Acesso em: 23/1/2013.

SWAINE, M.D.; WHITMORE, T.C. On the definition of ecological species groups in tropical rain forests. **Vegetatio**, Dordrecht, v.75, p. 81-86. 1988.

SYROS, T.; YUPSANIS, T.; ZAFIRIADIS H.; ECONOMOU, A. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 161, p. 69-77, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 5. ed. Massachusetts: Sinauer, 2010. 782 p.

TAVARES, F. R.; GRAÇA, M. E. C. Materiais e procedimentos para a produção de mudas por estaquia. In: GALVÃO, A. P. M. **Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivas e ambientais: um guia para ações municipais e regionais.** Brasília: Embrapa

Comunicação para Transferência de Tecnologia; Colombo: Embrapa Florestas, 2000. p. 199-208.

TAYLOR, C. M. Rubiaceae. In: MELHEM, T. S. A.; WANDERLEY, M. G. L.; MARTINS, S. E.; JUNG-MENDAÇOLLI, S. L.; SHEPHERD, G. J.; KIRIZAWA, M. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: Fapesp: Instituto de Botânica, 2007. v. 5, 476 p.

TAYLOR, C. M.; DOMÍNGUEZ-LICONA, E.; OCHOTERENA, H. A New Species of *Psychotria* subg. *Psychotria* (Rubiaceae, Psychotrieae) from West-Central Mexico. **Novon: A Journal for Botanical Nomenclature**, Saint Louis, v. 17, p. 105-109, Abr. 2007.

TOFANELLI, M. B. D.; CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A.; CHALFUN JÚNIOR, A. Capacidade de enraizamento de estacas lenhosas e semilenhosas de cultivares de pessegueiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, p. 840-847, 2001.

TONIETTO, A.; FORTES, G. R. de L.; SILVA, J. B. da. Enraizamento de miniestacas de ameixeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 373-376, 2001.

TORRES, R. B.; MARTINS, F. R.; KINOSHITA, L. S. Climate, soil and tree flora relationships in forests in the state of São Paulo, Southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 41-49, 1997.

VEIERSKOV, B. Relations between carbohydrates and adventitious root formation. In: DAVIS, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKLHA, N. **Adventitious rooting formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, 1988. p. 70-78.

VELOSO, H. P.; RANGEL FILHO, A. L. R.; LIMA, J. C. A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro: IBGE/DERMA, 1991. 123 p.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

VIEIRA, R. C.; GOMES, D. M. S. Superfície da lâmina foliar de *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra, *P. leiocarpa* Cham. & Schltdl., *P. stenocalyx* Müll. Arg. e *P. tenuinervis* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 263-270, 1995.

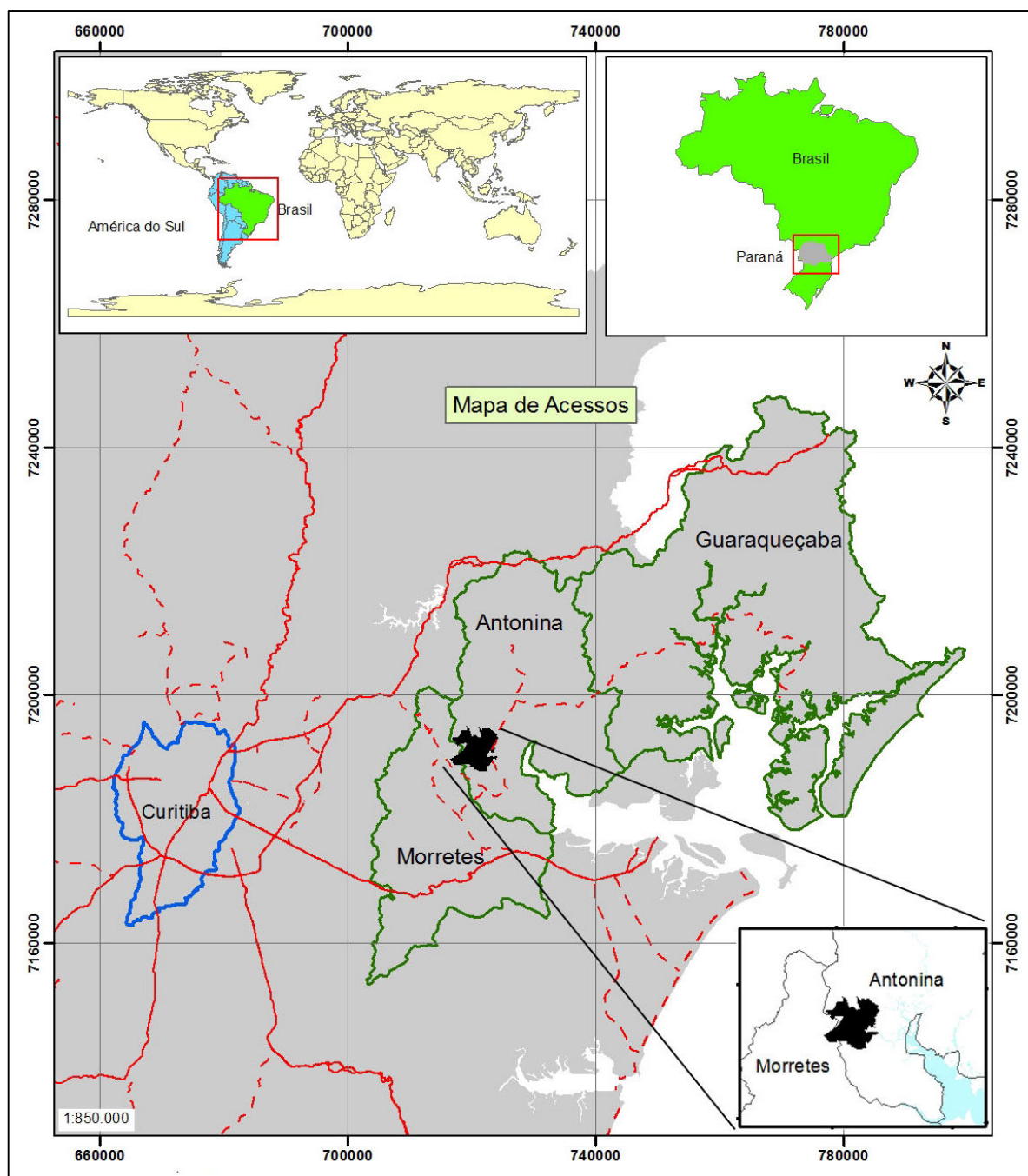
ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos**. Curitiba: [K. C. Zuffellato-Ribas], 2001. 39 p.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WITT, N. G. P. M. Potenziale medicinale di *Pisychotria nuda*: una possibilità di propagazione di piante madri selezionate. In: CONGRESSO NAZIONALE DI FITOTERAPIA, 15., 2009, Tivoli Terme (Roma). **Abstracts...** Siena: Società Italiana di Fitoterapia, 2009. p. 49-51.

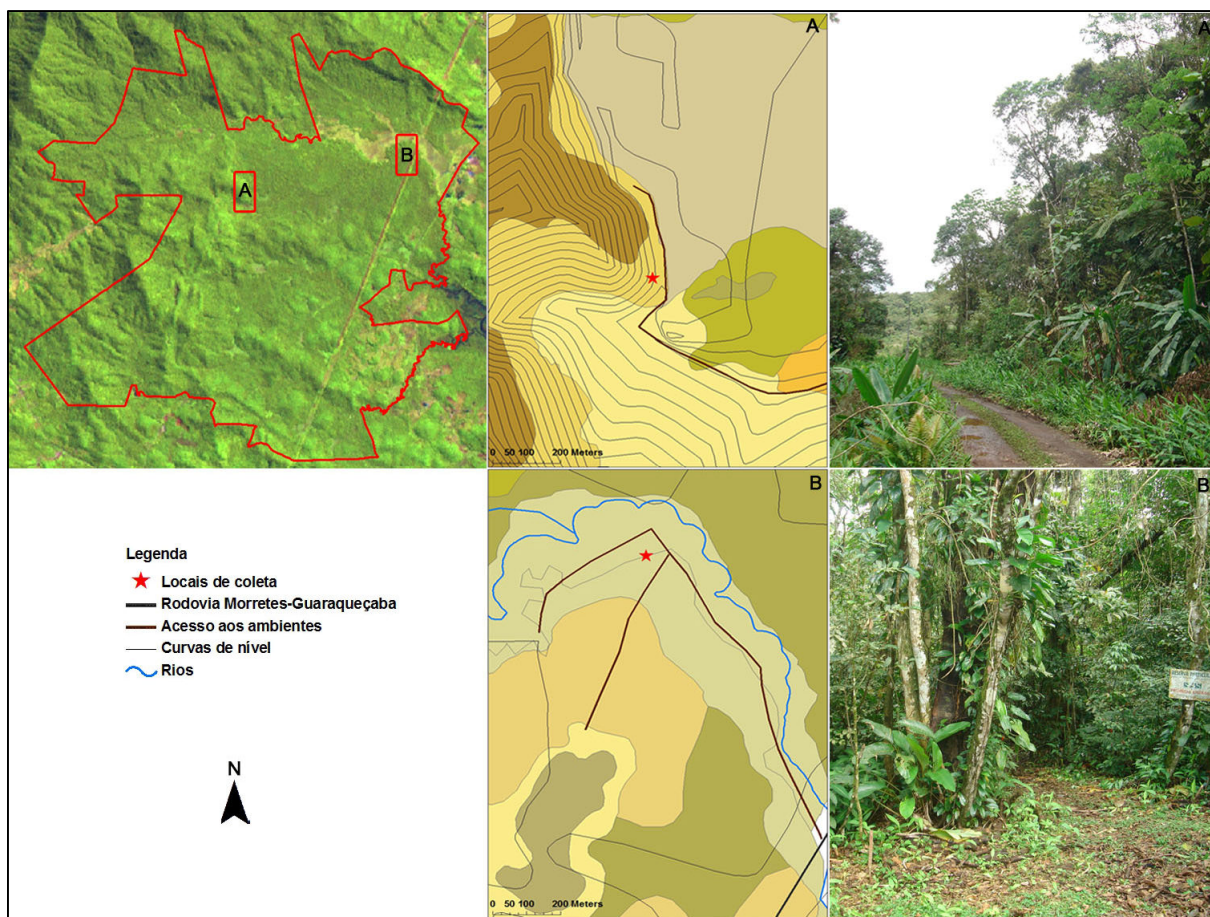
ANEXOS



ANEXO 1 - Localização da Reserva Natural do Morro da Mina (Fonte: Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental).



ANEXO 2 - Localização e tipo de solo das áreas de coleta no Reserva Natural do Morro da Mina (A) Ambiente encosta; (B) Ambiente planície. (Fonte dos mapas: Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental, Fonte das fotos: Ferreira, B. G. A., 2010).



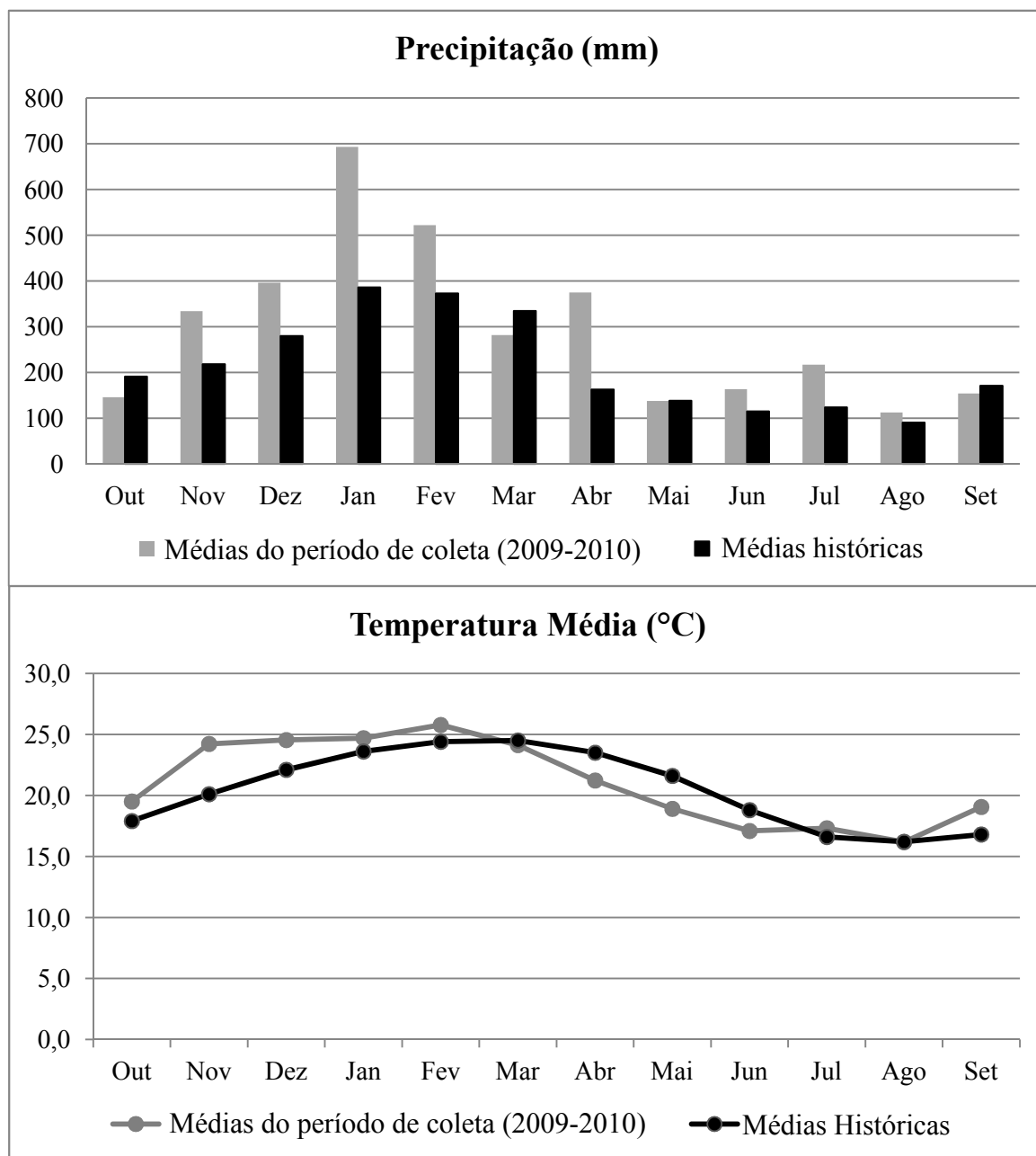
ANEXO 3 - Dados meteorológicos mensais de Antonina-PR durante o período de outubro/2009 a setembro/2010. (Fonte: SIMEPAR - Sistema Meteorológico do Paraná, 2010).

Mês/Ano	Precipitação (mm)	UR Média (%)	Rad. Solar Média (W/m <sup>2</sup> )	Temperatura (°C)		
				Média	Média das mínimas	Média das máximas
Out/09	146,2	91,1	206,2	19,5	16,1	24,6
Nov/09	334,2	88,3	262,6	24,2	20,2	34,5
Dez/09	396,0	89,0	342,6	24,5	20,7	30,7
Jan/10	692,8	92,8	292,4	24,7	21,6	31,1
Fev/10	521,8	90,7	326,8	25,8	21,8	33,1
Mar/10	281,6	92,6	234,5	24,1	20,8	29,5
Abr/10	374,6	93,0	198,9	21,2	17,4	26,8
Mai/10	137,8	93,1	160,7	18,9	15,0	24,5
Jun/10	163,4	92,1	167,0	17,1	13,5	23,4
Jul/10	217,2	94,5	147,2	17,3	14,0	22,7
Ago/10	112,6	91,6	182,7	16,2	12,5	22,7
Set/10	154,4	91,9	80,7	19,1	15,4	24,6
MÉDIA	294,4	91,7	216,9	21,1	17,4	27,3

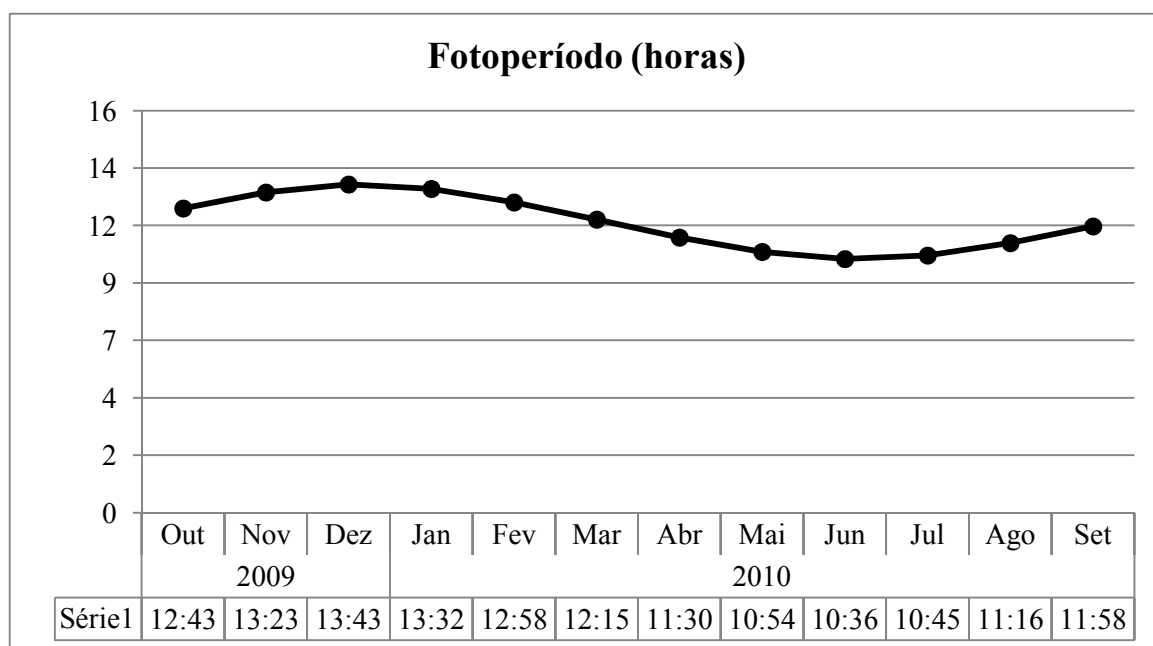
ANEXO 4 - Médias históricas dos dados meteorológicos mensais de Antonina-PR durante o período de 1978 a 1999. (Fonte: IAPAR - Instituto Agrônômico do Paraná, 2011).

Mês/Ano	Precipitação (mm)	UR Média (%)	Temperatura (°C)		
			Média	Média das mínimas	Média das máximas
Out	191,4	84	17,9	14,3	23,2
Nov	218,4	85	20,1	16,4	25,3
Dez	280,1	87	22,1	18	27,7
Jan	386,2	87	23,6	19,4	29,4
Fev	373,1	87	24,4	20,2	30,3
Mar	334,9	87	24,5	20,5	30,3
Abr	163,3	87	23,5	19,7	28,9
Mai	138,8	86	21,6	17,8	27,1
Jun	115	86	18,8	14,9	24,6
Jul	124,1	85	16,6	12,5	22,7
Ago	90,5	83	16,2	12,3	22,3
Set	171,3	82	16,8	12,7	23
MÉDIA	215,6	85	20,5	16,6	26,2

ANEXO 5 - Dados de pluviosidade e temperaturas médias mensais durante período de outubro/2009 a setembro/2010 e médias históricas para Antonina-PR. (Fontes: SIMEPAR - Sistema Meteorológico do Paraná, 2010 e IAPAR - Instituto Agrônômico do Paraná, 2011).

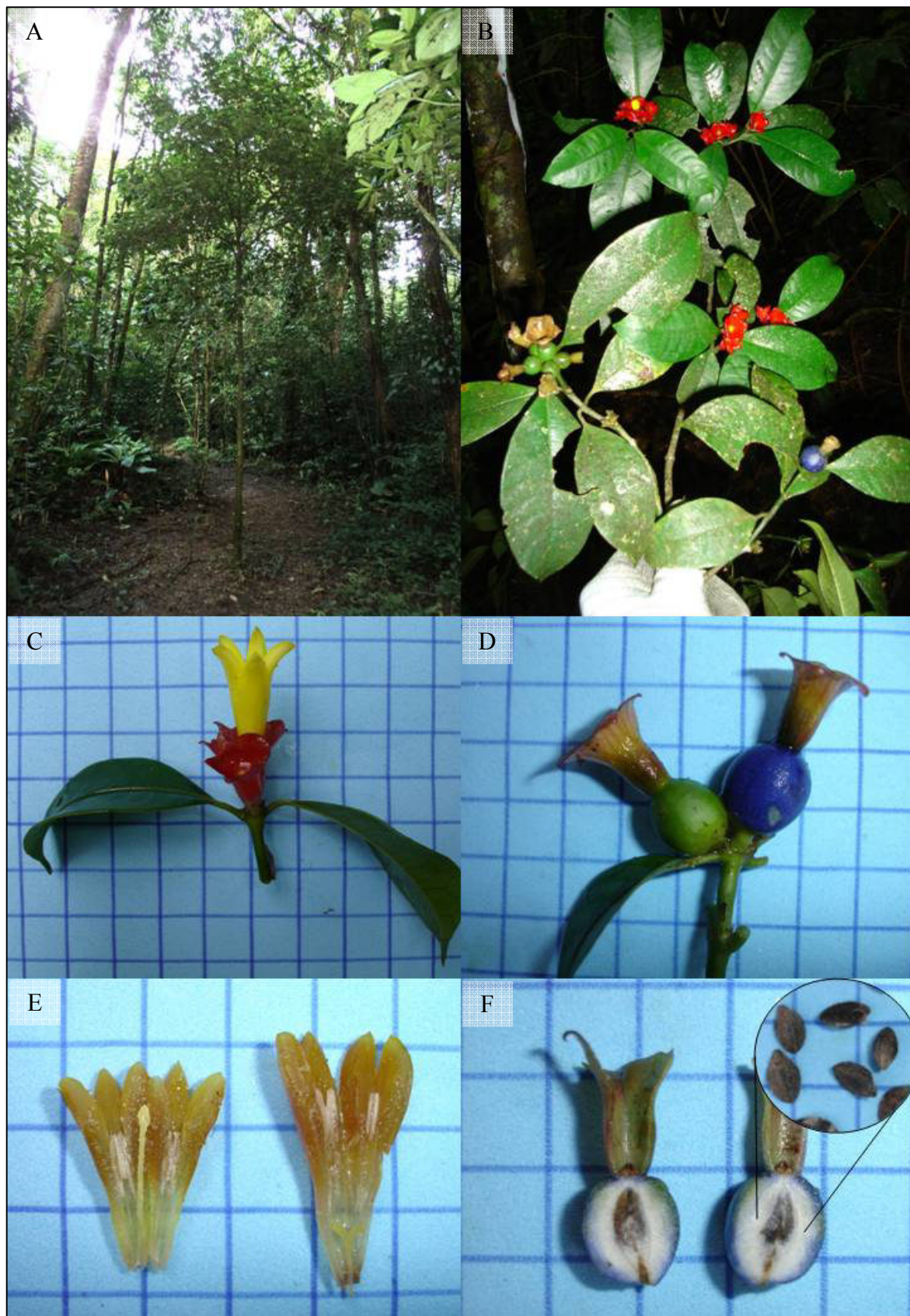


ANEXO 6 – Fotoperíodo médio mensal durante período de outubro/2009 a setembro/2010 para Antonina-PR. (Fontes: Observatório Nacional, 2011).





ANEXO 7 - *Psychotria nuda*: (A) Planta matriz adulta, (B) Ramo; (C) Inflorescência com flor em antese; (D) Infrutescência com fruto maduro e imaturo; (E) Detalhes do gineceu e androceu de flor brevistila a direita e longistila a esquerda; (F) Detalhes do fruto maduro e sementes. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).





ANEXO 8 - Caracterização dos ramos de *Psychotria nuda* em cada fenofase estudada: (A) Fenofase 1- primavera; (B) Fenofase 2 - verão; (C) Fenofase 3 - outono; (D) Fenofase 4 - inverno. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).



ANEXO 9 - Porcentagem de matrizes com brotações foliares e florais, flores, frutos verdes e frutos maduros em cada fenofase de *Psychotria nuda* e em cada ambiente de desenvolvimento.

Fenofase	Ambiente	Brot. Foliares	Brot. Floral	Flores	Frutos Verdes	Frutos Maduros
1	Encosta	100	30	0	100	0
	Planície	100	35	0	100	15
	Média	100	32,5	0	100	7,5
2	Encosta	85	11	100	100	40
	Planície	70	14	100	100	80
	Média	77,5	12,5	100	100	60
3	Encosta	0	0	30	100	30
	Planície	0	0	60	100	15
	Média	0	0	45	100	22,5
4	Encosta	70	0	0	100	0
	Planície	75	0	0	100	0
	Média	72,5	0	0	100	0



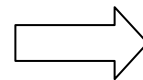
ANEXO 10 - Esquema do processo de estaquia utilizada para a propagação vegetativa de *Psychotria nuda*. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).



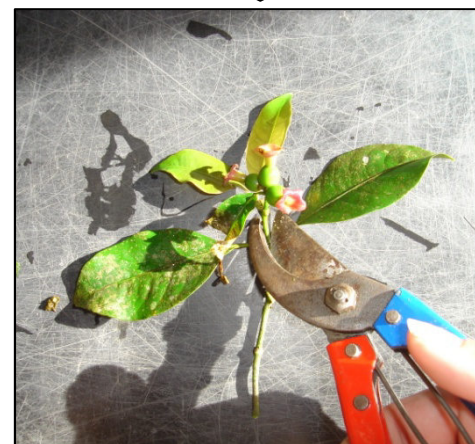
Coleta dos ramos



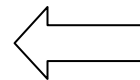
Detalhe dos ramos  
utilizados na estaquia



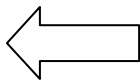
Armazenagem para  
transporte



Confecção das estacas



Estaca confeccionada

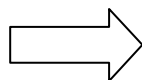


Leito de enraizamento

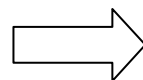
ANEXO 11 - Esquema da metodologia para o processamento das amostras utilizadas para as análises nutricionais *Psychotria nuda*. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).



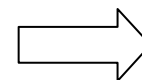
Coleta dos ramos



Separação das folhas



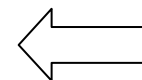
Armazenamento para transporte



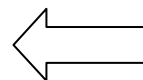
Lavagem em água destilada



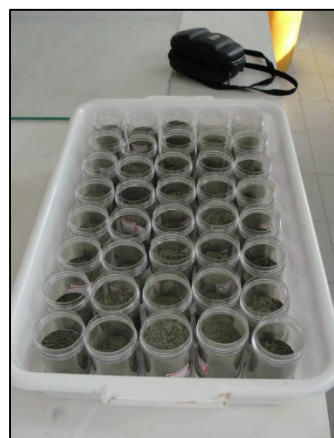
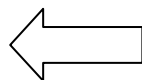
Secagem a 60±5 °C



Pesagem



Moagem



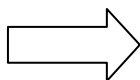
Amostras processadas



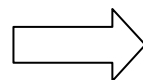
ANEXO 12 - Esquema do processo de digestão via seca das amostras de *Psychotria nuda* para a determinação de P, K, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Mn e B. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).



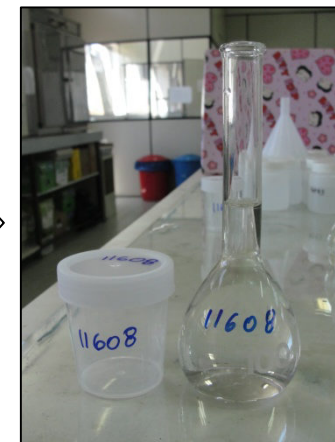
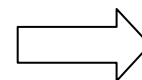
Pesagem da amostra



Queima



Solubilização em HCl  
e filtragem

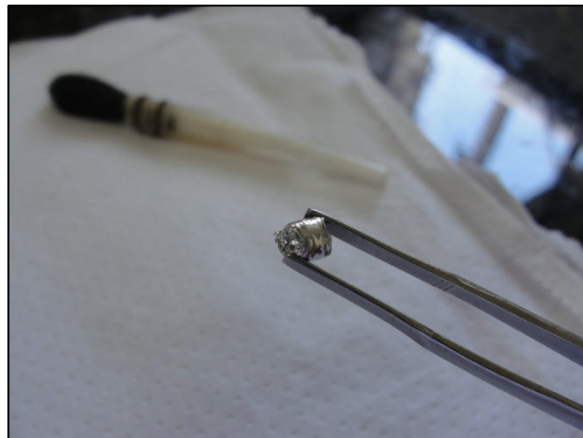


Amostra pronta para  
as leituras

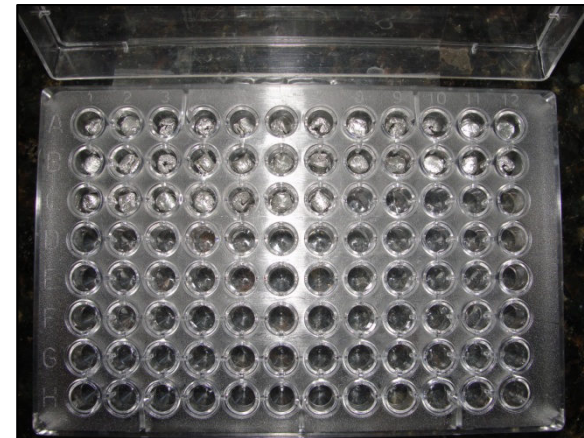
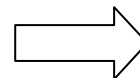
ANEXO 13 - Esquema do processo de combustão seca das amostras de *Psychotria nuda* para a determinação de N e C. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).



Pesagem da amostra em capsulas de estanho

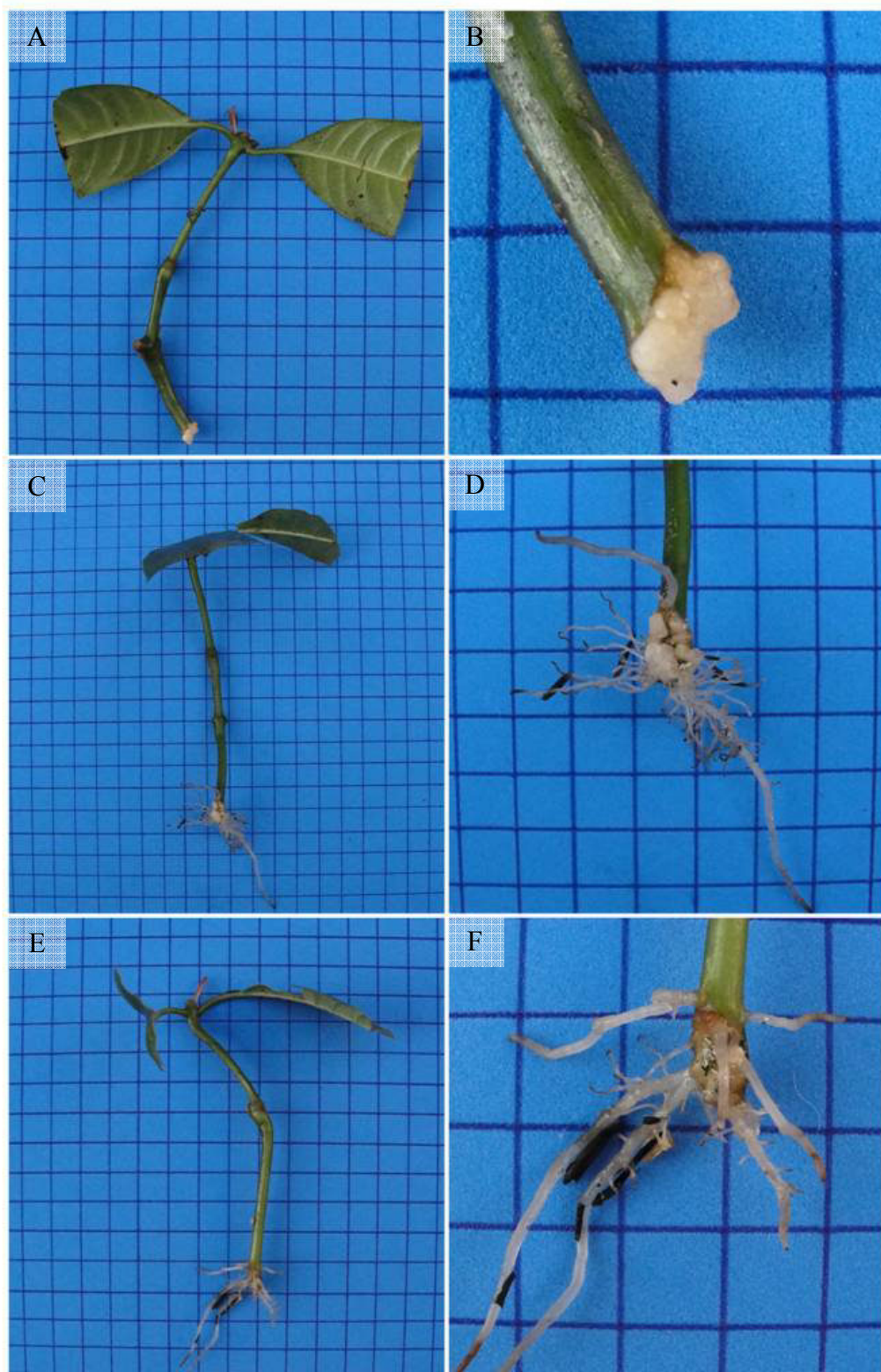


Amostra pronta após fechamento das capsulas



Amostras armazenadas em caixas de acrílico

ANEXO 14 - Caracterização das estacas de *Psychotria nuda* após 60 dias no leito de enraizamento (A) Estaca com formação de calos; (B) Detalhe dos calos; (C) Estaca enraizada com formação de calos; (D) Detalhe da base da estaca com raiz e calos; (E) Estaca enraizada sem a presença de calos; (F) Detalhe da base da estaca enraizada. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).



ANEXO 15 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as concentrações foliares dos nutrientes minerais para *Psychotria nuda*. (n=160)

	C	N	K	P	Ca	Mg	B	Zn	Fe	Cu	Mn
C	1	0,520**	-0,305**	0,060	-0,115	-0,194*	-0,144	-0,248**	-0,221**	-0,105	0,061
N	0,520**	1	-0,039	0,144	-0,214**	-0,121	-0,278**	-0,098	0,016	0,049	0,011
K	-0,305**	-0,039	1	0,184*	0,116	-0,219**	0,101	0,204**	0,361**	0,015	0,127
P	0,060	0,144	0,184*	1	0,296**	-0,103	-0,365**	0,218**	0,377**	0,154	0,200*
Ca	-0,115	-0,214**	0,116	0,296**	1	0,031	-0,102	-0,094	0,172*	-0,150	0,124
Mg	-0,194*	-0,121	-0,219**	-0,103	0,031	1	0,137	-0,002	-0,033	0,076	-0,168*
B	-0,144	-0,278**	0,101	-0,365**	-0,102	0,137	1	0,022	0,069	0,062	-0,026
Zn	-0,248**	-0,098	0,204**	0,218**	-0,094	-0,002	0,022	1	0,477**	0,223**	0,060
Fe	-0,221**	0,016	0,361**	0,377**	0,172*	-0,033	0,069	0,477**	1	0,193*	0,096
Cu	-0,105	0,049	0,015	0,154	-0,150	0,076	0,062	0,223**	0,193*	1	0,018
Mn	0,061	0,011	0,127	0,200*	0,124	-0,168*	-0,026	0,060	0,096	0,018	1

\* = significativo a 5%, \*\*= significativo a 1%.

ANEXO 16 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis biométricas e a concentração de macro e micronutrientes para *Psychotria nuda*, na fenofase 1 e nos dois ambientes de coleta. (n=20).

ENCOSTA							
	%Enr.	Nº Raiz	Comp. Raiz	%Brot.	Nº Brot.	Comp. Brot.	%2FO
N	-0,229	-0,448*	-0,142	-0,046	0,003	0,084	-0,515*
K	0,164	-0,040	-0,216	0,002	0,207	-0,166	0,125
P	-0,066	-0,143	-0,083	-0,052	-0,121	0,224	-0,220
Ca	-0,296	-0,165	-0,404	0,127	0,162	-0,619**	0,141
Mg	-0,189	0,067	0,422	-0,243	-0,108	0,491*	-0,158
B	0,040	0,132	-0,058	-0,294	-0,127	-0,323	0,133
Zn	0,115	-0,166	0,039	0,529*	0,298	0,258	0,189
Fe	-0,099	-0,064	-0,349	0,031	-0,165	-0,044	-0,166
Cu	-0,219	0,030	-0,118	-0,177	-0,166	-0,017	0,111
Mn	-0,027	0,094	0,190	0,214	0,322	-0,193	0,184
C/N	0,206	0,554*	0,224	-0,003	-0,102	-0,067	0,541*
PLANICIE							
	%Enr.	Nº Raiz	Comp. Raiz	%Brot.	Nº Brot.	Comp. Brot.	%2FO
N	-0,204	0,008	0,066	-0,053	0,367	0,672**	-0,122
K	-0,042	-0,088	-0,040	0,022	0,207	0,268	-0,372
P	0,214	0,359	0,379	-0,289	0,041	0,462*	-0,179
Ca	0,114	0,341	0,318	-0,388	-0,328	0,414	0,017
Mg	0,036	-0,119	0,057	-0,321	-0,445*	-0,132	-0,095
B	-0,074	-0,063	-0,190	0,133	-0,250	-0,190	0,403
Zn	0,279	0,290	0,444*	0,062	-0,133	-0,147	0,034
Fe	-0,101	-0,189	-0,173	0,311	-0,092	-0,371	0,277
Cu	-0,513*	-0,106	0,355	-0,430	0,258	0,069	-0,488*
Mn	-0,101	0,123	0,425	-0,489*	0,055	-0,071	-0,164
C/N	0,149	-0,103	-0,142	-0,010	-0,287	-0,748**	0,062

\* = significativo a 5%, \*\*= significativo a 1%. Enr.: Porcentagem de estacas enraizadas, Nº Raiz: Número de raízes formadas por estaca, Comp. Raiz: Comprimento das três maiores raízes formadas (cm), %Brot.: Porcentagem de estacas com brotações, Nº de Brot.: Número de brotações formadas por estaca, Comp. Brot.: Comprimento das três maiores brotações por estaca (cm), %2FO: Porcentagem de estacas com manutenção de duas folhas originais no momento da avaliação.

ANEXO 17 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis biométricas e a concentração de macro e micronutrientes para *Psychotria nuda*, na fenofase 2 e nos dois ambientes de coleta. (n=20).

ENCOSTA							
	%Enr.	Nº Raiz	Comp. Raiz	%Brot.	Nº Brot.	Comp. Brot.	%2FO
N	0,010	-0,349	-0,210	0,017	0,424	0,138	0,021
K	0,333	-0,203	-0,463*	-0,249	0,395	-0,113	0,358
P	0,308	0,015	0,180	0,274	0,331	0,368	0,236
Ca	-0,257	0,269	0,326	-0,211	-0,216	0,095	-0,328
Mg	-0,132	0,227	0,124	-0,246	-0,013	-0,094	-0,171
B	-0,197	-0,357	-0,278	-0,224	-0,527*	-0,338	-0,073
Zn	-0,003	0,228	0,018	0,156	0,140	0,188	-0,157
Fe	0,321	0,297	0,277	0,236	-0,455*	0,087	0,027
Cu	-0,339	0,280	0,056	0,129	0,080	0,168	0,194
Mn	-0,261	-0,026	-0,085	0,383	-0,015	0,293	-0,042
C/N	-0,078	0,223	0,132	0,007	-0,453*	-0,209	-0,030
PLANICIE							
	%Enr.	Nº Raiz	Comp. Raiz	%Brot.	Nº Brot.	Comp. Brot.	%2FO
N	0,304	0,446*	0,163	-0,367	-0,261	0,031	0,085
K	0,254	0,238	-0,156	-0,208	-0,192	-0,286	-0,099
P	0,041	0,144	0,136	-0,358	0,101	0,272	-0,071
Ca	-0,303	0,003	-0,139	0,006	0,092	-0,101	0,081
Mg	0,110	0,375	-0,121	-0,136	-0,040	-0,108	-0,298
B	0,073	0,088	0,344	0,452*	0,340	0,202	-0,330
Zn	-0,068	0,126	-0,048	-0,126	-0,095	-0,054	0,226
Fe	-0,496*	-0,243	-0,098	0,041	0,081	0,004	-0,135
Cu	0,029	-0,119	-0,146	0,357	-0,050	0,061	0,140
Mn	-0,001	0,160	0,418	0,343	0,350	0,133	0,035
C/N	-0,441	-0,486*	-0,063	0,213	0,225	-0,031	-0,142

\* = significativo a 5%, \*\*= significativo a 1%. Enr.: Porcentagem de estacas enraizadas, Nº Raiz: Número de raízes formadas por estaca, Comp. Raiz: Comprimento das três maiores raízes formadas (cm), %Brot.: Porcentagem de estacas com brotações, Nº de Brot.: Número de brotações formadas por estaca, Comp. Brot.: Comprimento das três maiores brotações por estaca (cm), %2FO: Porcentagem de estacas com manutenção de duas folhas originais no momento da avaliação.



ANEXO 18 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis biométricas e a concentração de macro e micronutrientes para *Psychotria nuda*, na fenofase 3 e nos dois ambientes de coleta. (n=20).

ENCOSTA							
	%Enr.	Nº Raiz	Comp. Raiz	%Brot.	Nº Brot.	Comp. Brot.	%2FO
N	-0,313	-0,201	-0,101	-0,383	-0,295	-0,394	0,156
K	0,072	0,329	0,076	0,106	0,158	0,232	-0,043
P	-0,084	-0,031	-0,197	0,201	0,396	0,282	-0,076
Ca	0,100	-0,246	-0,231	-0,057	-0,021	0,093	0,131
Mg	0,344	-0,232	0,002	0,197	0,032	0,045	-0,097
B	0,058	-0,150	0,247	0,307	0,287	0,216	-0,478*
Zn	0,090	0,101	-0,043	-0,336	-0,375	-0,366	0,171
Fe	0,391	0,230	-0,085	-0,307	-0,263	-0,040	0,160
Cu	0,130	0,191	0,451*	0,063	0,140	-0,028	-0,133
Mn	0,107	0,154	0,175	0,172	0,301	0,383	-0,161
C/N	0,296	0,154	0,083	0,306	0,280	0,349	-0,210
PLANICIE							
	%Enr.	Nº Raiz	Comp. Raiz	%Brot.	Nº Brot.	Comp. Brot.	%2FO
N	-0,421	-0,254	0,012	0,266	0,456*	-0,335	-0,349
K	0,097	-0,275	-0,109	0,429	0,344	-0,208	-0,425
P	-0,030	-0,060	-0,446*	0,154	0,216	-0,176	-0,085
Ca	-0,215	-0,430	-0,668**	0,095	0,128	-0,011	0,038
Mg	-0,010	-0,069	-0,128	-0,277	-0,168	0,160	0,362
B	0,277	0,339	-0,046	-0,082	0,089	-0,208	0,212
Zn	0,325	-0,009	0,184	0,177	0,025	0,125	-0,212
Fe	-0,134	-0,492*	-0,117	0,207	0,032	-0,058	-0,157
Cu	0,056	-0,097	-0,207	-0,010	-0,155	0,011	0,203
Mn	-0,116	-0,040	-0,121	0,047	0,338	-0,162	-0,288
C/N	0,438	0,287	-0,054	-0,298	-0,399	0,347	0,339

\* = significativo a 5%, \*\*= significativo a 1%. Enr.: Porcentagem de estacas enraizadas, Nº Raiz: Número de raízes formadas por estaca, Comp. Raiz: Comprimento das três maiores raízes formadas (cm), %Brot.: Porcentagem de estacas com brotações, Nº de Brot.: Número de brotações formadas por estaca, Comp. Brot.: Comprimento das três maiores brotações por estaca (cm), %2FO: Porcentagem de estacas com manutenção de duas folhas originais no momento da avaliação.

ANEXO 19 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis biométricas e a concentração de macro e micronutrientes para *Psychotria nuda*, na fenofase 4 e nos dois ambientes de coleta. (n=20).

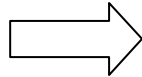
ENCOSTA							
	%Enr.	Nº Raiz	Comp. Raiz	%Brot.	Nº Brot.	Comp. Brot.	%2FO
N	-0,454*	-0,544*	-0,540*	0,020	0,113	-0,140	0,200
K	0,243	0,142	0,276	0,312	0,228	0,096	0,125
P	0,005	-0,220	0,212	0,200	-0,013	0,104	0,258
Ca	0,225	0,010	0,126	-0,208	0,137	-0,262	-0,179
Mg	0,234	0,359	0,279	-0,240	-0,210	0,255	0,081
B	-0,393	-0,452*	-0,296	0,253	0,061	-0,138	-0,125
Zn	0,103	0,299	0,201	0,004	-0,337	0,235	-0,017
Fe	-0,304	-0,089	-0,115	0,221	-0,121	0,080	0,391
Cu	-0,158	0,268	0,141	-0,069	0,171	0,557*	0,085
Mn	-0,196	-0,184	0,076	0,240	0,060	-0,235	0,012
C/N	0,351	0,469*	0,454*	-0,043	-0,256	0,006	-0,204
PLANICIE							
	%Enr.	Nº Raiz	Comp. Raiz	%Brot.	Nº Brot.	Comp. Brot.	%2FO
N	0,360	0,066	0,122	-0,290	-0,052	0,109	-0,144
K	0,085	0,140	0,190	0,360	0,119	0,361	-0,153
P	-0,313	-0,160	-0,078	0,248	-0,270	0,338	-0,327
Ca	-0,142	-0,172	-0,384	-0,291	0,237	-0,125	0,131
Mg	0,265	0,202	0,028	-0,448*	-0,111	-0,138	0,038
B	-0,543*	-0,474*	-0,652**	0,290	-0,071	-0,149	0,105
Zn	0,273	0,395	0,417	0,106	-0,169	-0,017	0,158
Fe	0,470*	0,338	0,341	-0,476*	0,066	-0,360	0,061
Cu	-0,254	-0,417	-0,176	0,363	0,234	0,078	0,245
Mn	0,365	0,306	0,225	-0,016	0,491*	0,086	0,019
C/N	-0,437	-0,040	-0,135	0,243	0,017	-0,229	0,048

\* = significativo a 5%, \*\*= significativo a 1%. Enr.: Porcentagem de estacas enraizadas, Nº Raiz: Número de raízes formadas por estaca, Comp. Raiz: Comprimento das três maiores raízes formadas (cm), %Brot.: Porcentagem de estacas com brotações, Nº de Brot.: Número de brotações formadas por estaca, Comp. Brot.: Comprimento das três maiores brotações por estaca (cm), %2FO: Porcentagem de estacas com manutenção de duas folhas originais no momento da avaliação.

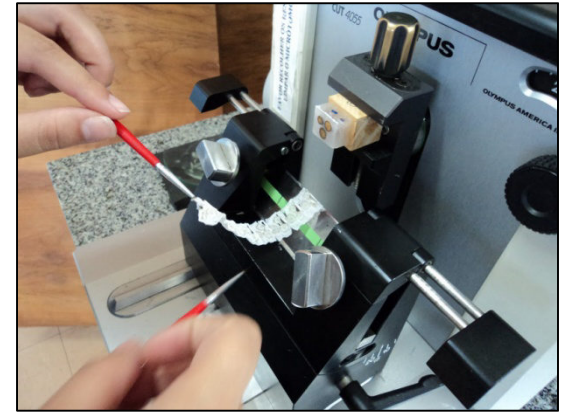
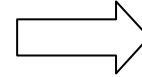
ANEXO 20 - Esquema do processo anatômico para confecção de lâminas semipermanentes de secções de caule e folha de *Psychotria nuda*.  
(Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).



Amostras em polietilenoglicol



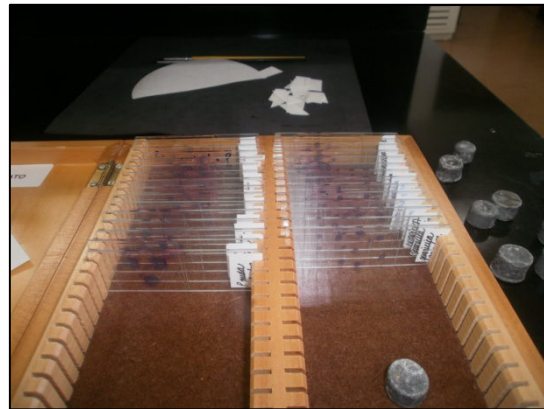
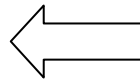
Frascos em estufa a 60°C



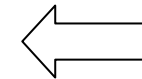
Seccionamento das amostras em micrótomo rotatório



Fotomicroscópio



Lâminas semipermanentes

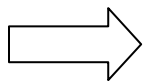


Coloração

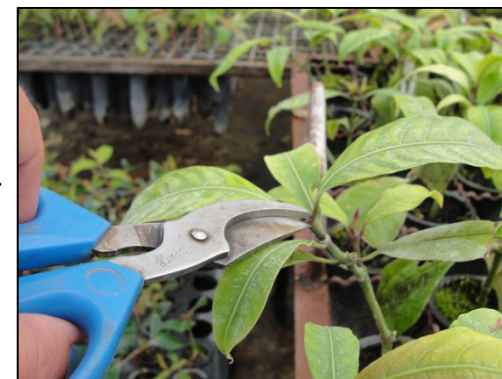
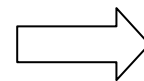
ANEXO 21 - Esquema do processo desde a produção de minicepas até a instalação da miniestaquia utilizada para a propagação vegetativa de *Psychotria nuda*. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).



Produção de minicepas via estaquia



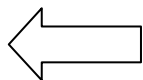
Minijardim em desenvolvimento



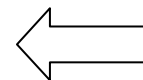
Coleta das brotações das minicepas para a instalação da miniestaquia



Leito de enraizamento



Miniestaca confeccionada



Brotações coletadas e armazenadas por matriz



ANEXO 22 - Miniestacas enraizadas de *Psychotria nuda* após 40 dias no leito de enraizamento (A, B) Matriz 60; (C, D) Matriz 41; (E, F) Matriz 51. (Fonte: Ferreira, B. G. A., 2010).

